

RAFAEL JOSÉ SILVEIRA

**ESTUDO DA FRAÇÃO INSPIRADA DE OXIGÊNIO NA
ISQUEMIA-REPERFUSÃO PULMONAR EM RATOS.**

**Dissertação apresentada à Universidade
Federal de Santa Catarina, para a obtenção
do Título de Mestre em Ciências Médicas.**

COORDENADOR : Prof. Dr. ARMANDO JOSÉ d'ACAMPORA

ORIENTADOR : Prof. Dr. JOÃO JOSÉ DE DEUS CARDOSO

CO-ORIENTADOR : Prof. Dr. DANILO WILHELM FILHO

FLORIANÓPOLIS

2002

Aos meus pais, JOSÉ DOS SANTOS SILVEIRA e DINAH SILVA SILVEIRA, berço de toda a minha formação ético-profissional, pelo carinho e confiança que sempre me dedicaram.

À minha tia, Dra. Maria José da Silveira, *in memoriam*,
exemplo de dedicação aos pacientes.

À minha esposa ARLETE e ao meu filho HUMBERTO JOSÉ,
com muito amor, dedico esta dissertação.

“A Deus, pela graça de viver.”

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. ARMANDO JOSÉ d'ACAMPORA, Coordenador do Curso de Mestrado em Ciências Médicas da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), pela sua dedicação e capacidade de trabalho.

Ao Prof. Dr. DANILO WILHELM FILHO, co-orientador, pela participação fundamental para o enriquecimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. NEWTON CAPELLA, Chefe do Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental do Departamento de Clínica Cirúrgica da UFSC, pela colaboração na realização dos procedimentos.

Ao Prof. Dr. PAULO FREITAS, na orientação e assessoria da análise estatística dos resultados.

Ao Mestre em Cirurgia Torácica FÁBIO MAY DA SILVA, colega e amigo, pela colaboração constante na execução dos procedimentos e sugestões na realização da pesquisa.

À Mestre em Epidemiologia ANA LUIZA CURI HALLAL, pelo auxílio na interpretação dos resultados.

À Prof. Dra. TÂNIA BEATRIZ CRECZYNSKI PASA, pelo estímulo e idéias durante o planejamento da pesquisa.

À Mestre CARLA CRISTINA THOBER CHARÃO, pela colaboração na dosagem laboratorial.

À Bioquímica SAMIRA CARDOSO FERREIRA e demais funcionários do Laboratório Central do Hospital Universitário da UFSC, nas análises gasométricas.

Aos alunos do Curso de Biologia, FABÍOLA SELL, MICHELE GHISLANDI e MÁRCIA STRAPAZZON, nas análises laboratoriais.

À Instrumentadora de Cirurgia, INÊS TEREZINHA NUNC-NFOÔNRO, pela inestimável ajuda na realização dos procedimentos.

Aos Srs. LUIZ HENRIQUE PRAZERES E CHARLES VEIGA, funcionários da disciplina de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental da UFSC, pela cooperação nos experimentos.

E finalmente a todos que de alguma maneira participaram da elaboração deste trabalho, o meu MUITO OBRIGADO!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. JOÃO JOSÉ DE DEUS CARDOSO, orientador e amigo,
pelo espírito crítico e conhecimentos transmitidos ao
longo de toda essa jornada.

RESUMO

A lesão da isquemia-reperfusão pulmonar é o dano tecidual que ocorre no período de tempo entre a retirada do órgão do doador e sua respectiva implantação no receptor, constituindo-se no fator que mais influencia na qualidade da preservação, relacionada à técnica do transplante. Nessa lesão, interferem o modo da expansão pulmonar e a fração inspirada de oxigênio (FiO_2), que modificam o metabolismo celular neste período, e alteram a resposta do pulmão à isquemia-reperfusão. Desse modo, o objetivo dessa pesquisa foi estudar o efeito das frações inspiradas de oxigênio a 0,21, 0,40 e 1,00 na isquemia-reperfusão pulmonar. Utilizaram-se 40 ratos Wistar distribuídos aleatoriamente em 4 grupos. O grupo I foi o controle e, nos grupos II, III e IV, os animais foram ventilados durante a isquemia-reperfusão com uma FiO_2 a 0,21, 0,40 e 1,00 respectivamente. O tempo de isquemia foi de 30 minutos e o de reperfusão de 10 minutos. O modelo utilizado foi de isquemia-reperfusão normotérmica, *in situ*. Como parâmetros de avaliação, utilizou-se a pressão arterial média sistêmica (PAM), a relação da pressão parcial de oxigênio arterial/fração inspirada de oxigênio (PO_2/FiO_2), a dosagem de antioxidantes e substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e a relação do peso pulmonar úmido/seco. Os resultados mostraram que a ventilação com FiO_2 a 0,21, quando comparada à ventilação com FiO_2 a 0,40 e 1,00, durante o período de isquemia-reperfusão, apresentou menor diminuição da PAM, melhor relação PO_2/FiO_2 , maiores valores nas medidas da glutathiona reduzida, glutathiona redutase e glutathiona S-transferase, menor produção das TBARS e menor formação de edema pulmonar.

Concluiu-se que a ventilação com baixa FiO_2 (0,21) mostrou melhores resultados quando comparada àquelas realizadas com FiO_2 mais elevadas (0,40 e 1,00) na isquemia-reperfusão pulmonar.

SUMMARY

The lung ischaemic-reperfusion injury is a tissue damage which occurs in the period between the donor organ extraction and its respective implantation into the receptor, resulting in the most influential factor that most influences the quality of transplant techniques. In this lesion, the way the lung expands and the oxygen inspired fraction (FiO_2) both interfere modifying the cellular metabolism in this period, therefore altering the lung reaction in the ischaemic-reperfusion. This way, the aim of this research was to study the FiO_2 effect at 0,21, 0,40 and 1,00 in the lung ischaemic-reperfusion. 40 Wistar mice were used and distributed at random in 4 groups. The group I was the control one, and in groups II, III, IV mice were ventilated during the ischaemic-reperfusion at 0,21, 0,40 and 1.00 FiO_2 respectively. The ischaemic time was 30 minutes and the reperfusion time was 10 minutes. The model used was the normothermic ischaemic-reperfusion, *in situ*. As assessment parameters, the systemic average arterial pressure (PAM), the oxygen arterial partial pressure/ inspired oxygen fraction relation (PO_2/FiO_2), the antioxidants and barbituric acid substances reactive measure (TBARS) and the lung weight (moist/dry) relation were used. The results showed that the ventilation with FiO_2 at 0,21, when compared with the ventilation at 0,40 and 1,00 FiO_2 during the ischaemic-reperfusion period, presented lower PAM, better PO_2/FiO_2 relation, higher values in the reduced glutathione, reductase glutathione and S-transferase glutathione measures, lower production of the TBARS and lower formation of lung edema. It was concluded that the low FiO_2 (0.21) ventilation showed better results

when compared to those performed with higher FiO₂ (0,40 and 1,00) in the lung ischaemic-reperfusion.

SUMÁRIO

RESUMO	7
SUMMARY.....	9
1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVO	16
3. MÉTODO	17
4. RESULTADOS.....	28
5. DISCUSSÃO	61
6. CONCLUSÃO	74
7. REFERÊNCIAS	75
NORMAS ADOTADAS	86
APÊNDICE	87
ANEXO	89

1. INTRODUÇÃO

O transplante de órgãos é um antigo anseio da comunidade médico-científica que se tornou exequível, no início do século XX, com o desenvolvimento das técnicas de anastomoses vasculares ¹.

Esse avanço da medicina evidenciou o fenômeno da rejeição que, associado à disfunção primária do enxerto decorrente da preservação do órgão, e à sepsis, mostrou-se como um dos principais problemas relacionados ao transplante de órgãos ^{2,3}.

O primeiro transplante pulmonar em humanos foi realizado por Hardy et al. ⁴, em 1963, onde se demonstrou a viabilidade técnica do procedimento. No entanto, o resultado final não foi satisfatório, uma vez que o paciente foi a óbito no 18º dia de pós-operatório, em consequência de uma insuficiência renal.

Durante os 20 anos seguintes, somente 40 transplantes pulmonares foram realizados em todo o mundo. Tal fato deveu-se aos insucessos pós-operatórios relacionados principalmente à dificuldade no diagnóstico e controle da rejeição, às complicações na cicatrização da via aérea e à infecção pós-operatória ⁵⁻¹⁰.

A partir do início da década de 80, o transplante de órgãos teve grande impulso com a utilização da ciclosporina A no controle da rejeição. Em 1983, o TORONTO LUNG TRANSPLANT GROUP ¹¹, utilizando esse potente medicamento associado ao aprimoramento das técnicas de anastomose brônquica e à melhor seleção de doadores e receptores, realizou o primeiro transplante de pulmão com sucesso. A partir de então, o transplante pulmonar tornou-se uma opção terapêutica para os pacientes com doenças terminais do pulmão, refratárias a outros tipos de tratamento ^{12,13}.

No entanto, passada a euforia inicial, observou-se que, embora minimizadas, persistiam as dificuldades relativas à rejeição, à infecção pós-operatória e à preservação do enxerto pulmonar. Além disso, o crescimento do número de pacientes nas listas de espera do transplante pulmonar aumentou a demanda de pulmões doadores^{14, 15}.

Assim, no sentido de aumentar a oferta de enxertos disponíveis para transplante e melhores resultados pós-operatórios, pesquisas têm sido direcionadas para a utilização do transplante lobar de doador vivo em crianças, o uso do pulmão de doador cadáver, a realização do xenotransplante e a melhoria na qualidade da preservação¹⁶⁻¹⁸.

O aprimoramento das condições de preservação permitirá que o pulmão suporte um maior tempo de isquemia, além das atuais 6 a 8 horas¹⁹⁻²¹. Isso possibilitará a busca do enxerto pulmonar em locais distantes dos centros de transplantes, aumentando a oferta de doadores e, provavelmente, melhorará a evolução pós-operatória.

Para uma boa evolução pós-operatória, é fundamental que se diminua a lesão decorrente do período entre a retirada do órgão do doador e a sua respectiva implantação no receptor. Essa lesão é conhecida como “lesão da isquemia-reperfusão”, cujos mecanismos baseiam-se, fundamentalmente, na formação e liberação de espécies reativas do oxigênio^{22, 23}.

Esses mecanismos atuam, preponderantemente, no parênquima pulmonar e endotélio vascular, resultando em alterações que se manifestarão clinicamente como infiltrado pulmonar, hipoxemia arterial, diminuição da complacência pulmonar e aumento da resistência vascular pulmonar²⁴⁻²⁶.

Essas manifestações ocorrem no período pós-operatório imediato do transplante pulmonar e são conhecidas como resposta de reimplante pulmonar que, dependendo da intensidade, pode evoluir para a falência do enxerto pulmonar e a morte do receptor²².

Nesse sentido, qualquer medida que diminua a lesão da isquemia-reperfusão estará contribuindo para a melhoria da preservação e conseqüentemente do sucesso do transplante pulmonar.

Entre essas medidas, as mais importantes são a hipotermia, o uso de solução de preservação e o padrão ventilatório²⁷⁻³¹.

No estudo do padrão ventilatório, destacam-se como pontos fundamentais o estado da expansão pulmonar e a concentração alveolar de oxigênio durante o período de isquemia.

Em relação ao estado da expansão pulmonar, a insuflação é superior à atelectasia. A insuflação mantém a distensão alveolar, estimula a secreção de surfactante, melhora a distribuição da solução de preservação e diminui a pressão de reperfusão³²⁻³⁴.

A manutenção da ventilação, durante a isquemia, também parece acrescentar benefícios à preservação^{35,36}. Ulicny et al.³⁷ mostraram que a ventilação com oxigênio diminuía a lesão decorrente da isquemia-reperfusão, e sugeriram que esse fato devia-se a uma oferta constante de oxigênio para o metabolismo celular.

De maneira semelhante, Okuda et al.³⁸ e Van Raemdonck et al.³⁹ mostraram maiores níveis de PO₂ e menor quantidade de edema tecidual em pulmões ventilados durante a isquemia, resultando numa melhor função pós-preservação.

A insuflação pulmonar ou ventilação, durante a isquemia, manteria os alvéolos distendidos, o que permitiria a difusão do oxigênio alveolar aos tecidos adjacentes, mantendo o metabolismo celular aeróbio e, conseqüentemente, retardaria ou inibiria o aparecimento do metabolismo anaeróbio⁴⁰⁻⁴². Desse modo, ocorreria uma menor formação de metabólitos tóxicos, melhorando a resposta tecidual à isquemia-reperfusão.

A concentração alveolar de oxigênio, que apresenta relação direta com a FiO_2 , durante o período de isquemia-reperfusão, não está perfeitamente determinada e permanece um assunto polêmico na literatura.

Enquanto Veith et al.⁴³ mostraram melhores resultados na preservação pulmonar com a utilização do oxigênio a 40%, Kuang et al.⁴⁴ não mostraram diferenças significantes na função pulmonar pós isquemia-reperfusão entre pulmões ventilados com oxigênio a 21% ou 100%.

Nessa mesma linha, Locke et al.⁴⁵, Weder et al.⁴⁶ e Puskas et al.⁴⁷ observaram uma melhor preservação pulmonar com o uso de pulmões hiperinsuflados com oxigênio a 100%, e essa técnica passou a ser adotada na clínica, pela maioria dos centros de transplantes pulmonares do mundo.

Por outro lado, concentrações elevadas de oxigênio no espaço alveolar têm sido implicadas numa maior liberação de espécies reativas do oxigênio, o que piora a qualidade da preservação. Esse fato estaria relacionado a uma maior peroxidação lipídica da membrana celular, que poderia se iniciar já mesmo durante a fase de isquemia^{48, 49}.

Nesse sentido, esse trabalho teve como objetivo estudar a influência de diferentes FiO_2 sobre o fenômeno da isquemia-reperfusão pulmonar, com o intuito de proporcionar algum avanço na área da preservação pulmonar para transplantes.

2. OBJETIVO

Estudar o efeito das frações inspiradas de oxigênio a 0,21, 0,40 e 1,00 na isquemia-reperfusão pulmonar.

3. MÉTODO

AMOSTRA

Foram utilizados 40 ratos (*Rattus norvegicus albinus*), da linhagem Wistar, machos, adultos, com peso individual entre 300 e 350 gramas (g), procedentes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Os animais passaram por um período mínimo de adaptação de 8 dias, recebendo água e ração *ad libitum* até o início do experimento e foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos:

GRUPO I: (n = 10)

Animais submetidos à ventilação com ar ambiente e toracotomia.

GRUPO II: (n = 10)

Animais submetidos à ventilação com ar ambiente, toracotomia e pinçamento parcial do hilo pulmonar esquerdo (artéria-veia) com micropinças vasculares. Os pulmões foram ventilados com oxigênio a 21% ($FiO_2 = 0,21$) durante o período de isquemia-reperfusão.

GRUPO III: (n = 10)

Animais submetidos à ventilação com ar ambiente, toracotomia e pinçamento parcial do hilo pulmonar esquerdo (artéria-veia) com micropinças vasculares. Os pulmões foram ventilados com oxigênio a 40% ($FiO_2 = 0,40$) durante o período de isquemia-reperfusão.

GRUPO IV: (n = 10)

Animais submetidos à ventilação com ar ambiente, toracotomia e pinçamento parcial do hilo pulmonar esquerdo (artéria-veia) com micropinças vasculares. Os pulmões foram ventilados com oxigênio a 100% ($\text{FiO}_2 = 1,00$) durante o período de isquemia-reperusão.

A representação esquemática da distribuição dos grupos está ilustrada na figura 1.

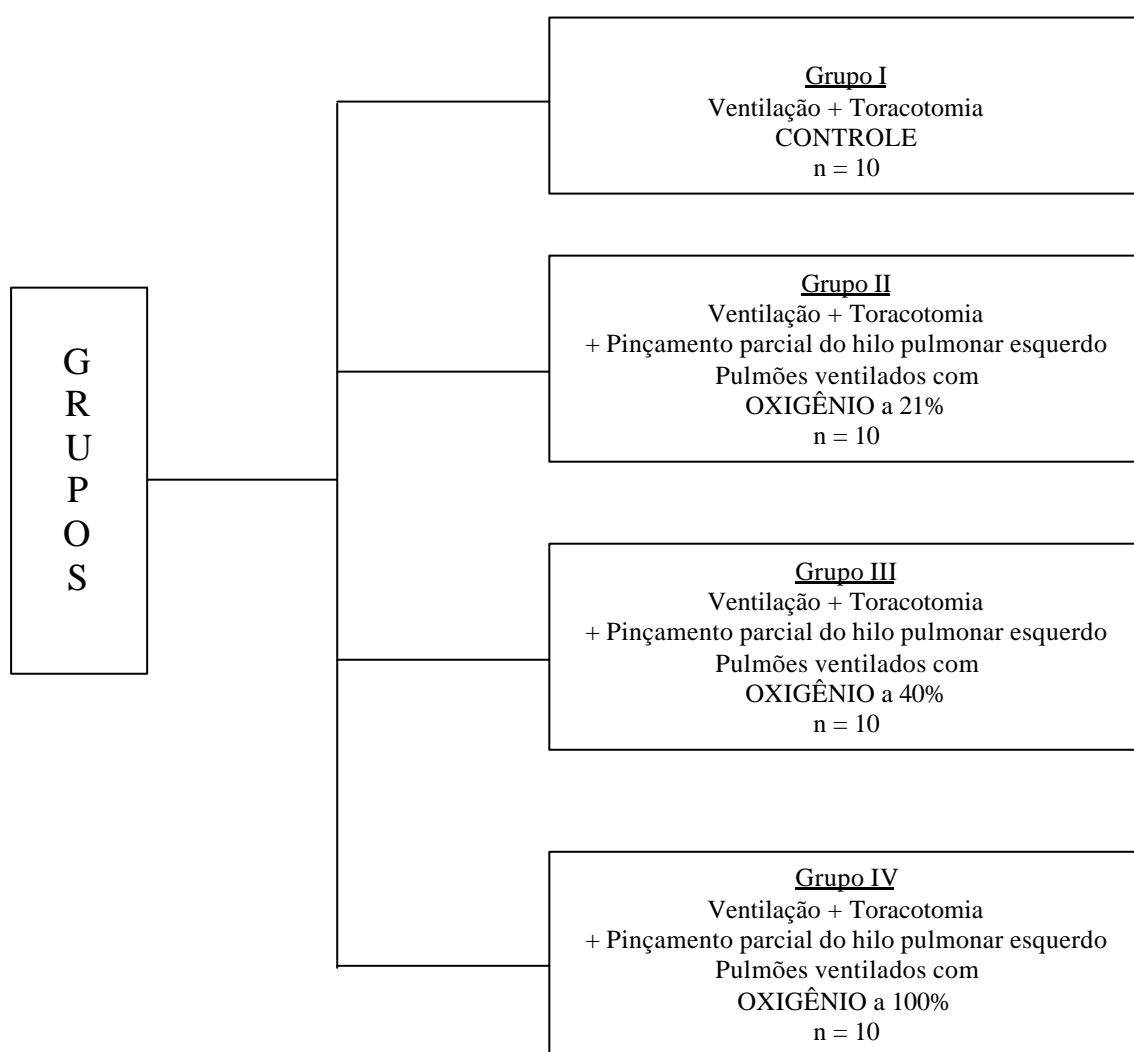


Figura 1 – Esquema da distribuição dos grupos.

PROCEDIMENTOS

O experimento foi realizado no Laboratório de Técnica Operatória e Cirurgia Experimental do Departamento de Clínica Cirúrgica da UFSC, após o projeto ter sido aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais em Pesquisa.

Os animais receberam como medicação pré-anestésica a atropina na dose de 0,25 miligrama por quilo (mg/Kg), por via subcutânea, e foram anestesiados com uma mistura de pentobarbital sódico a 3% e cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-dihidro-4H-1,3-tiazina, na proporção de 10:1. Foi administrado 0,10 mililitro (ml)/100g de peso, da mistura, por via intramuscular, na face interna da pata traseira (*pés*). O animal foi considerado anestesiado quando ocorreu a perda do reflexo córneo-palpebral e a ausência da reação motora pela preensão do coxim adiposo da pata dianteira (*manus*).

Realizou-se uma traqueostomia cervical, intubação traqueal com um cateter de polietileno nº. 6 e ventilação mecânica do animal.

A ventilação mecânica foi realizada com o aparelho Harvard – 683 (Anexo A), numa frequência de 80 movimentos respiratórios por minuto e volume de ar corrente calculado com o auxílio da curva de Kleinman & Radford, considerando-se o peso do animal (Anexo B).

Efetou-se uma laparotomia mediana para cateterização da aorta abdominal (*aorta abdominalis*) com cateter de silicone nº. 0, que foi utilizado para a medida da pressão arterial média sistêmica (PAM), coleta de sangue para análise da pressão parcial de oxigênio arterial (PO₂) e heparinização do animal.

A heparinização se fez por meio da administração de 0,50 ml de uma solução de soro fisiológico (solução de Cloreto de Sódio a 0,9%) contendo 0,02 ml de heparina na concentração de 5.000 unidades (U)/ml.

O sistema de verificação da PAM, no período transoperatório, foi montado conforme mostra a figura 2. O segmento de tubo plástico (sonda nasogástrica) entre a torneira de três vias e a conexão com o cateter aórtico foi preenchido com soro fisiológico. O segmento entre a torneira e o manômetro foi preenchido com ar ambiente sob pressão até que registrasse 120 milímetros de mercúrio (mmHg).

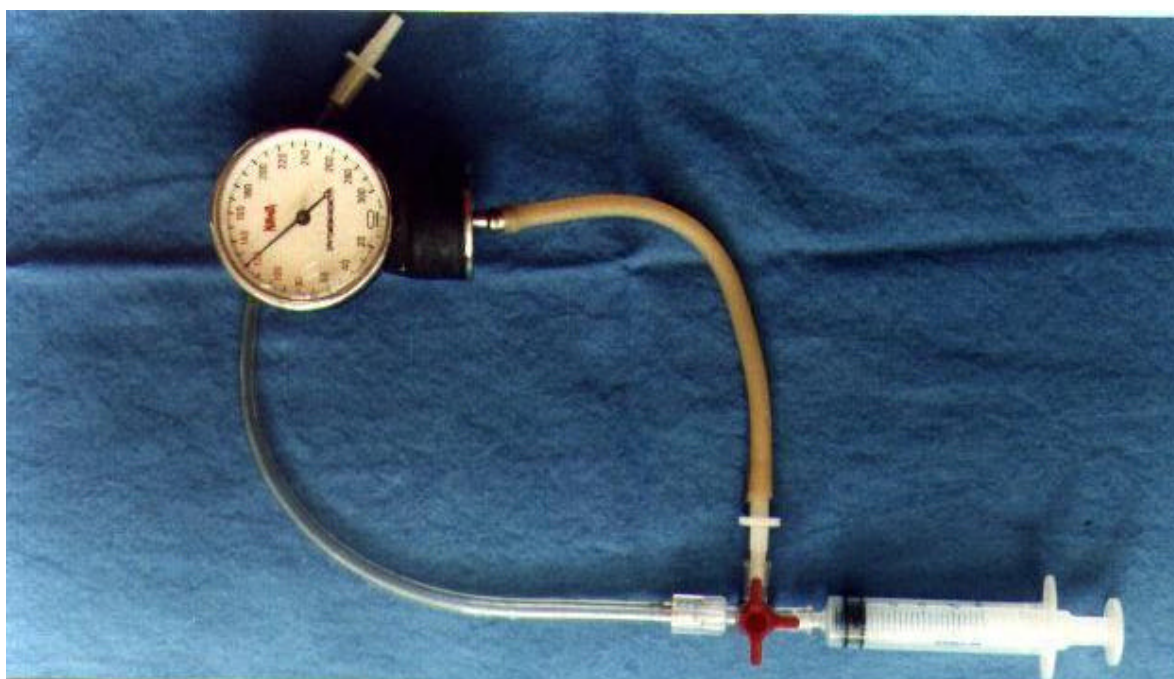


Figura 2 - Sistema de mensuração da pressão arterial média sistêmica.

Efetou-se uma toracotomia anterior bilateral com secção transversal do esterno (*sternum*) no seu 1/3 médio. Com auxílio do microscópio de luz D.F. Vasconcelos MC-5 em aumento de 8 vezes, utilizando-se técnica microcirúrgica, dissecou-se o hilo pulmonar esquerdo (*hilus pulmonis sinister*) e individualizou-se a artéria e a veia pulmonar esquerda – Figura 3.

A artéria e a veia pulmonar esquerda foram mantidas pinçadas nos grupos II, III e IV, durante o período de isquemia.

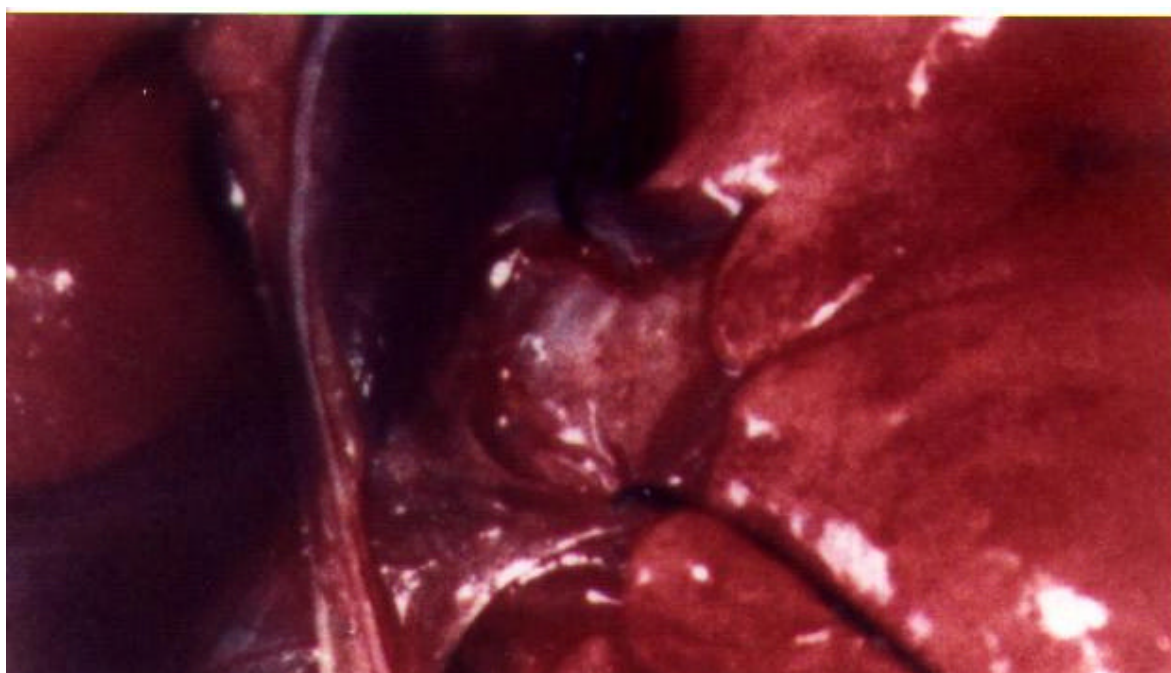


Figura 3 – Individualização da artéria e veia pulmonar esquerda.

O pulmão esquerdo foi submetido a um período de 30 minutos de isquemia e 10 minutos de reperfusão *in situ*. A temperatura da sala operatória foi mantida entre 19 e 24 graus centígrados (°C).

Durante o período de isquemia-reperfusão, os pulmões foram ventilados com diferentes FiO_2 conforme o grupo estudado.

Para a ventilação dos pulmões no grupo ventilado com FiO_2 a 0,21, utilizou-se o ar ambiente que, ao nível do mar e sob condições normais de temperatura e pressão atmosférica, apresenta aproximadamente a concentração de oxigênio a 21%.

Para a ventilação dos pulmões nos grupos ventilados com FiO_2 a 0,40 e 1,00, utilizaram-se recipientes próprios para armazenamento de gases, contendo as respectivas concentrações de oxigênio a 40% e 100% (Anexo C).

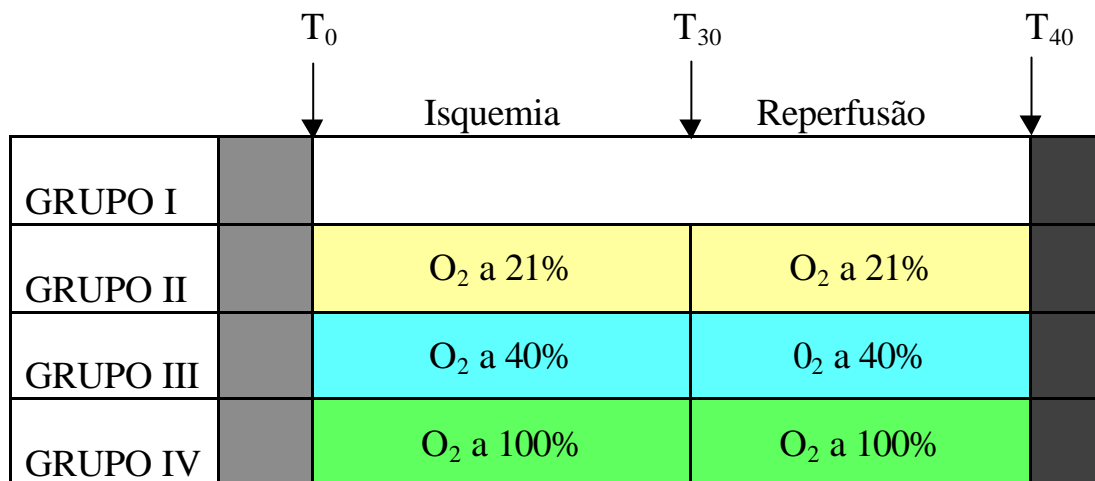
No tempo denominado de “finalização do ato operatório”, efetuou-se a irrigação pulmonar com soro fisiológico. Para isso, procedeu-se à ligadura das veias cavas superiores e inferior (*vena cava cranialis e caudalis*), secção parcial do arco aórtico (*arcus aortae*), cateterismo do átrio direito (*atrium dextrum*) e injeção lenta de 10,00 ml de soro fisiológico à temperatura ambiente.

Realizaram-se, então, as pneumonectomias esquerda e direita, o que resultou na morte do animal.

O ato operatório teve a duração média de 103 minutos e os momentos operatórios foram distribuídos conforme a sequência seguinte:

Tempo (minutos)	Procedimentos
0-5	pré-anestesia e anestesia;
15-40	traqueostomia, ventilação mecânica, laparotomia, cateterismo aórtico e instalação da PAM;
40-60	toracotomia e dissecção do hilo pulmonar esquerdo;
60 (T₀)	medida da PAM e PO ₂ . Pinçamento parcial do hilo pulmonar esquerdo;
60-90	ISQUEMIA
90 (T₃₀)	medida da PAM e PO ₂ . Despinçamento do hilo pulmonar esquerdo;
90-100	REPERFUSÃO
100 (T₄₀)	medida da PAM e PO ₂ ;
100-103	“finalização do ato operatório”: ligadura das veias cavas superiores e inferior, secção do arco aórtico, cateterização do átrio direito, irrigação pulmonar e pneumonectomias esquerda e direita.

A representação esquemática dos procedimentos efetuados em cada grupo está representada na figura abaixo (Figura 4).









-  Pré-anestesia, anestesia, traqueostomia, laparotomia, cateterismo aórtico, instalação da pressão arterial média sistêmica (PAM), toracotomia e dissecação do hilo pulmonar esquerdo
-  Grupo-controle : sem isquemia-reperusão
-  Isquemia-reperusão : ventilação com oxigênio a 21%
-  Isquemia-reperusão : ventilação com oxigênio a 40%
-  Isquemia-reperusão - ventilação com oxigênio a 100%
-  Ligadura das veias cavas superiores e inferior, secção do arco aórtico, cateterização do átrio direito, irrigação pulmonar e pneumonectomias esquerda e direita.

Figura 4 – Esquema dos procedimentos transoperatórios nos diferentes grupos.

Os métodos de avaliação utilizados foram:

1. Medida da pressão arterial média sistêmica (PAM) realizada nos tempos: zero (T_0) – imediatamente antes do pinçamento parcial do hilo pulmonar esquerdo; trinta (T_{30}) – 30 minutos após o início da isquemia e imediatamente antes do despinçamento do hilo pulmonar esquerdo; quarenta (T_{40}) – 10 minutos após o início da reperfusão.
2. Medida da relação da pressão parcial de oxigênio arterial/fração inspirada de oxigênio (PO_2/FiO_2) realizada nos tempos: zero (T_0) – imediatamente antes do pinçamento parcial do hilo pulmonar esquerdo; trinta (T_{30}) – 30 minutos após o início da isquemia e imediatamente antes do despinçamento do hilo pulmonar esquerdo; quarenta (T_{40}) – 10 minutos após o início da reperfusão.
3. Dosagem no tecido pulmonar dos seguintes antioxidantes: glutathiona reduzida (GSH), glutathiona redutase (GR), glutathiona S-transferase (GST), glutathiona peroxidase (GPx) e catalase (CAT).
4. Dosagem no tecido pulmonar das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS).
5. Medida da relação do peso pulmonar úmido/seco realizada por meio da pesagem de uma porção do pulmão esquerdo (pulmão submetido à isquemia-reperfusão) “*in natura*” e sua posterior secagem em estufa a 60°C por 4 horas, utilizando-se uma balança de alta precisão (Anexo D).

A gasometria arterial foi realizada no Laboratório Central do Hospital Universitário da UFSC (Anexo E).

A dosagem dos antioxidantes e das TBARS foi realizada no Laboratório de Ecofisiologia Respiratória do Departamento de Ecologia e Zoologia da UFSC, por meio de espectrofotometria (Anexo F).

Para análise dos resultados utilizaram-se os seguintes testes estatísticos:

1 – Análise de variância não paramétrica por postos de **KRUSKAL-WALLIS**⁵⁰, quando se comparam possíveis diferenças entre os quatro grupos (I x II x III x IV).

2 – Quando o teste de Kruskal-Wallis apresentou significância estatística, ele foi complementado pelo teste de comparações múltiplas de **MANN-WHITNEY**⁵⁰ (I x II, I x III, I x IV, II x III, II x IV e III x IV).

3 – Teste de **WILCOXON**⁵⁰, quando se compararam possíveis diferenças entre os pulmões esquerdo e direito nos quatro grupos (I, II, III e IV).

Quando se compararam possíveis diferenças entre os quatro grupos (I x II x III x IV) no tempo zero, a variável foi usada com o seu valor absoluto.

Quando se compararam possíveis diferenças entre os quatro grupos (I x II x III x IV) no tempo quarenta, preferiu-se utilizar as variáveis:

$$\% 0 \rightarrow 40 = \frac{\text{tempo zero} - \text{tempo quarenta}}{\text{tempo zero}}$$

Quanto ao sinal, ele foi positivo quando significou um aumento da variável e negativo quando significou uma diminuição de acordo com o sentido biológico do fenômeno.

Em todos os casos o nível de rejeição da hipótese de nulidade foi sempre fixado em um nível de confiança de 95%, ou seja, com um valor igual ou menor do que 0,05 (5%).

Quando a estatística calculada apresentou um valor significativo usou-se um **asterisco (*)** para caracterizá-la.

As médias foram calculadas apenas a título de informação.

A análise estatística foi elaborada sob a orientação do Curso de Mestrado em Ciências Médicas da UFSC.

4. RESULTADOS

Tabela I- Valores da pressão arterial média sistêmica (PAM), em mmHg, de ratos submetidos à isquemia-reperfusão pulmonar, nos grupos I (controle), II (pulmão ventilado com O₂ a 21%), III (pulmão ventilado com O₂ a 40%) e IV (pulmão ventilado com O₂ a 100%) nos tempos 0, 30 e 40 minutos.

	Grupo I			Grupo II			Grupo III			Grupo IV		
	0	30	40	0	30	40	0	30	40	0	30	40
	110	130	135	120	135	135	120	112	102	130	100	110
	120	116	114	115	118	90	118	116	94	120	102	110
	110	110	115	118	117	102	120	110	80	130	120	116
	120	116	98	120	112	110	110	96	70	112	104	92
	110	102	95	115	108	95	110	116	92	110	100	88
	115	115	90	120	100	92	120	90	88	115	102	102
	115	115	102	110	110	108	130	124	110	115	100	85
	120	108	108	120	120	105	110	100	80	110	120	120
	115	102	102	120	120	108	130	110	90	115	95	80
	115	108	102	120	95	95	120	120	108	120	90	80
Média	115	112	106	118	113	104	119	109	91	118	103	98

Análise de variância por postos de KRUSKAL-WALLIS

(I x II x III x IV)

$$\chi^2_{\text{crítico}} = 7,82$$

tempo zero (T₀):

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 2,40 \quad p = 0,49$$

Tabela Ia - Valores dos % 0 → 40 minutos da pressão arterial média sistêmica (PAM), em mmHg, nos grupos I (controle), II (pulmão ventilado com O₂ a 21%), III (pulmão ventilado com O₂ a 40%) e IV (pulmão ventilado com O₂ a 100%).

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
	+22,72	+12,50	-15,00	-15,38
	-5,00	-21,73	-20,33	-8,33
	+4,54	-13,55	-33,33	-10,76
	-18,33	-8,33	-36,36	-17,85
	-13,63	-17,39	-16,36	-20,00
	-21,73	-23,33	-26,66	-11,30
	-11,30	-1,81	-15,38	-26,08
	-10,00	-12,50	-27,27	+9,09
	-11,30	-10,00	-30,76	-30,43
	-11,30	-20,83	-10,00	-33,33
Média	-7,53	-11,69	-23,14	-16,43

Análise de variância por postos de KRUSKAL-WALLIS

(I x II x III x IV)

$$\chi^2_{\text{crítico}} = 7,82$$

% 0 → 40:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 8,80 \quad (p = 0,03)*$$

*Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A partir da tabela Ia, os grupos foram comparados dois a dois entre si pelo teste de MANN-WHITNEY.

$$U_{\text{crítico}} = 23,00$$

$$(\% 0 \rightarrow 40)$$

Grupo I x II	$U_{\text{calculado}} = 40,00$	$(p = 0,48)$
Grupo I x III	$U_{\text{calculado}} = 13,50$	$(p < 0,01)^*$
Grupo I x IV	$U_{\text{calculado}} = 31,50$	$(p = 0,16)$
Grupo II x III	$U_{\text{calculado}} = 21,50$	$(p = 0,02)^*$
Grupo II x IV	$U_{\text{calculado}} = 38,50$	$(p = 0,39)$
Grupo III x IV	$U_{\text{calculado}} = 33,00$	$(p = 0,21)$

*Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A análise estatística da PAM, segundo as tabelas I e Ia, mostrou que:

- não ocorreu diferença significativa da PAM no tempo zero entre os quatro grupos;
- ocorreu uma diminuição da PAM do tempo zero para o tempo 40 minutos (% $0 \rightarrow 40$) nos grupos II, III e IV, sendo significativa no grupo III.

Tabela II - Valores da relação da pressão parcial de oxigênio arterial/fração inspirada de oxigênio (PO_2/FiO_2), de ratos submetidos à esquemia-reperfusão pulmonar, nos grupos I (controle), II (pulmão ventilado com O_2 a 21%), III (pulmão ventilado com O_2 a 40%) e IV (pulmão ventilado com O_2 a 100%) nos tempo 0, 30 e 40.

Grupo I			Grupo II			Grupo III			Grupo IV			
0	30	40	0	30	40	0	30	40	0	30	40	
334	785	740	671	818	761	418	567	563	413	318	367	
538	671	739	709	737	767	436	475	421	609	315	339	
439	628	598	666	792	787	357	510	545	429	262	389	
528	604	677	533	739	755	809	592	551	547	373	351	
642	628	750	590	865	628	652	530	550	552	366	404	
334	451	401	547	766	686	623	567	548	519	341	303	
823	866	857	490	510	498	542	527	540	761	423	354	
723	857	876	408	656	645	633	547	500	407	287	286	
528	528	528	593	736	815	500	577	341	610	431	466	
647	809	728	583	750	779	545	470	477	435	363	376	
Média	554	683	689	597	737	712	551	590	503	528	347	363

Análise de variância por postos de KRUSKAL-WALLIS

(I x II x III x IV)

$$\chi^2_{\text{crítico}} = 7,82$$

tempo zero (T_0):

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 1,20 \quad p = 0,75$$

Tabela IIa - Valores dos % 0 → 40 minutos da relação da pressão parcial de oxigênio arterial/fração inspirada de oxigênio (PO_2/FiO_2), nos grupos I (controle), II (pulmão ventilado com O_2 a 21%), III (pulmão ventilado com O_2 a 40%) e IV (pulmão ventilado com O_2 a 100%).

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
	+121,37	+13,47	+34,68	-11,30
	+37,43	+8,12	-3,48	-44,38
	+36,18	+18,14	+52,74	-9,33
	+28,10	+41,69	-7,57	-35,90
	+16,66	+6,37	-15,61	-26,86
	+20,05	+25,30	-12,03	-41,62
	+4,10	+1,55	-0,52	-53,63
	21,05	+58,04	-21,01	-29,83
	0,00	+37,39	-31,86	-23,61
	+12,50	+33,63	-12,42	-13,60
Média	+29,74	+24,37	-1,70	-29,00

Análise de variância por postos de KRUSKAL-WALLIS

(I x II x III x IV)

$$\chi^2_{\text{crítico}} = 7,82$$

% 0 → 40:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 24,31 \quad (p < 0,01)^*$$

*Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A partir da tabela IIa, os grupos foram comparados dois a dois entre si pelo teste de MANN-WHITNEY.

$$U_{\text{crítico}} = 23,00$$

$$(\% 0 \rightarrow 40)$$

Grupo I e II	$U_{\text{calculado}} = 49,00$	$(p = 0,97)$
Grupo I e III	$U_{\text{calculado}} = 16,00$	$(p < 0,01)^*$
Grupo I e IV	$U_{\text{calculado}} = 0,00$	$(p < 0,01)^*$
Grupo II e III	$U_{\text{calculado}} = 16,00$	$(p < 0,01)^*$
Grupo II e IV	$U_{\text{calculado}} = 0,00$	$(p < 0,01)^*$
Grupo III e IV	$U_{\text{calculado}} = 16,00$	$(p < 0,01)^*$

*Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A análise estatística da relação PO_2/FiO_2 , segundo as tabelas II e IIa, mostrou que:

- não ocorreu diferença significativa da relação PO_2/FiO_2 no tempo zero entre os quatro grupos;
- ocorreu uma diminuição significativa da relação PO_2/FiO_2 do tempo zero para o tempo 40 minutos (% 0 \rightarrow 40) nos grupos III e IV;
- não ocorreu diferença significativa da relação PO_2/FiO_2 do tempo zero para o tempo 40 minutos (% 0 \rightarrow 40) nos grupos I e II.

Tabela III - Valores da glutathiona reduzida (GSH), em mM, de ratos submetidos à isquemia-reperfusão pulmonar, no pulmão esquerdo (esq.) e direito (dir.) nos grupos I (controle), II (pulmão ventilado com O₂ a 21%), III (pulmão ventilado com O₂ a 40%) e IV (pulmão ventilado com O₂ a 100%).

Grupo I		Grupo II		Grupo III		Grupo IV		
esq.	dir.	esq.	dir.	esq.	dir.	esq.	dir.	
0,543	0,564	0,948	1,419	0,748	1,150	0,670	1,346	
0,947	1,384	0,863	1,448	0,720	0,959	0,580	0,967	
1,099	1,107	1,539	0,850	0,819	0,842	0,670	1,026	
1,164	0,746	0,655	0,967	0,830	1,150	0,538	1,097	
0,304	1,303	0,760	1,099	0,441	1,014	0,320	1,314	
0,624	1,147	0,855	1,287	0,768	1,042	0,597	1,069	
1,388	1,42	1,134	1,252	0,663	0,831	0,842	0,811	
1,045	1,084	1,279	1,404	0,975	1,521	0,546	0,858	
1,037	1,568	0,983	1,451	0,827	1,131	0,624	1,482	
1,560	0,971	1,377	1,708	1,236	1,334	0,815	1,267	
Média	0,97	1,129	1,039	1,288	0,802	1,097	0,622	1,123

Análise de variância por postos de KRUSKAL-WALLIS

(I x II x III x IV)

$$\chi^2_{\text{crítico}} = 7,82$$

pulmão esquerdo:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 12,57 \quad p < 0,01^*$$

pulmão direito:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 3,15 \quad p = 0,36$$

*Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A partir da tabela III, os grupos foram comparados dois a dois entre si pelo teste de MANN-WHITNEY.

$$U_{\text{crítico}} = 23,00$$

(pulmão esquerdo)

Grupo I x II	$U_{\text{calculado}} = 48,00$	$(p = 0,91)$
Grupo I x III	$U_{\text{calculado}} = 34,00$	$(p = 0,24)$
Grupo I x IV	$U_{\text{calculado}} = 22,50$	$(p = 0,03)^*$
Grupo II x III	$U_{\text{calculado}} = 23,00$	$(p = 0,04)^*$
Grupo II x IV	$U_{\text{calculado}} = 6,00$	$(p < 0,01)^*$
Grupo III x IV	$U_{\text{calculado}} = 22,00$	$(p = 0,03)^*$

*Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A partir da tabela III, o pulmão esquerdo foi comparado com o pulmão direito dentro dos quatros grupos, pelo teste de WILCOXON.

$$T_{\text{crítico}} = 8,00$$

(esquerdo X direito)

Grupo I	$T_{\text{calculado}} = 14,00$	$p = 0,16$
Grupo II	$T_{\text{calculado}} = 10,00$	$p = 0,07$
Grupo III	$T_{\text{calculado}} = 0,00$	$p < 0,01^*$
Grupo IV	$T_{\text{calculado}} = 1,00$	$p < 0,01^*$

*Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A análise estatística da GSH, segundo a tabela III, mostrou que:

- ocorreu uma diminuição da GSH no pulmão esquerdo nos grupos II, III e IV, sendo significativa no grupo IV;
- ocorreu uma diminuição significativa da GSH no pulmão esquerdo em relação ao pulmão direito nos grupos III e IV;
- não ocorreu diferença significativa da GSH entre o pulmão esquerdo e direito nos grupos I e II;
- não ocorreu diferença significativa da GSH no pulmão direito entre os quatro grupos.

Tabela IV – Valores da glutathiona redutase (GR), em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$, de ratos submetidos à isquemia-reperfusão pulmonar, no pulmão esquerdo (esq.) e direito (dir.) nos grupos I (controle), II (pulmão ventilado com O_2 a 21%), III (pulmão ventilado com O_2 a 40%) e IV (pulmão ventilado com O_2 a 100%).

	Grupo I		Grupo II		Grupo III		Grupo IV	
	esq.	dir.	esq.	dir.	esq.	dir.	esq.	dir.
	108	85	84	62	96	77	75	96
	88	125	106	55	117	59	78	123
	147	112	88	85	133	117	118	138
	113	108	110	87	140	120	92	106
	70	189	57	114	82	81	42	74
	182	59	157	42	64	110	29	64
	179	177	86	92	106	106	56	134
	194	50	35	44	43	73	158	117
	179	87	70	75	71	95	74	98
	117	91	81	81	81	106	60	136
Média	137	108	87	73	93	94	78	108

Análise de variância por postos de KRUSKAL-WALLIS

(I x II x III x IV)

$$\chi^2_{\text{crítico}} = 7,82$$

pulmão esquerdo:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 10,22 \quad p = 0,01^*$$

pulmão direito:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 8,25 \quad p = 0,04^*$$

*Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A partir da tabela IV, os grupos foram comparados dois a dois entre si pelo teste de MANN-WHITNEY.

$$U_{\text{crítico}} = 23,00$$

(pulmão esquerdo)

Grupo I x II	$U_{\text{calculado}} = 15,00$	$(p < 0,01)^*$
Grupo I x III	$U_{\text{calculado}} = 22,00$	$(p = 0,03)^*$
Grupo I x IV	$U_{\text{calculado}} = 16,00$	$(p < 0,01)^*$
Grupo II x III	$U_{\text{calculado}} = 46,00$	$(p = 0,76)$
Grupo II x IV	$U_{\text{calculado}} = 39,00$	$(p = 0,43)$
Grupo III x IV	$U_{\text{calculado}} = 34,00$	$(p = 0,24)$

$$U_{\text{crítico}} = 23,00$$

(pulmão direito)

Grupo I x II	$U_{\text{calculado}} = 25,00$	$(p = 0,06)$
Grupo I x III	$U_{\text{calculado}} = 43,00$	$(p = 0,63)$
Grupo I x IV	$U_{\text{calculado}} = 43,00$	$(p = 0,63)$
Grupo II x III	$U_{\text{calculado}} = 26,00$	$(p = 0,07)$
Grupo II x IV	$U_{\text{calculado}} = 15,00$	$(p < 0,01)^*$
Grupo III x IV	$U_{\text{calculado}} = 32,00$	$(p = 0,19)$

*Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A partir da tabela IV, o pulmão esquerdo foi comparado com o pulmão direito dentro dos quatros grupos, pelo teste de WILCOXON.

$$T_{\text{crítico}} = 8,00$$

(esquerdo X direito)

Grupo I	$T_{\text{calculado}} = 14,00$	$p = 0,16$
Grupo II	$T_{\text{calculado}} = 21,00$	$p = 0,50$
Grupo III	$T_{\text{calculado}} = 25,00$	$p = 0,79$
Grupo IV	$T_{\text{calculado}} = 7,00$	$p = 0,03^*$

*Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A análise estatística da GR, segundo a tabela IV, mostrou que:

- ocorreu uma diminuição significativa da GR no pulmão esquerdo nos grupos II, III e IV;
- ocorreu uma diminuição significativa da GR no pulmão esquerdo em relação ao pulmão direito no grupo IV.

Tabela V- Valores da glutathione S-transferase (GST), em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$, de ratos submetidos à isquemia-reperfusão pulmonar, no pulmão esquerdo (esq.) e direito (dir.) nos grupos I (controle), II (pulmão ventilado com O_2 a 21%), III (pulmão ventilado com O_2 a 40%) e IV (pulmão ventilado com O_2 a 100%).

	Grupo I		Grupo II		Grupo III		Grupo IV	
	esq.	dir.	esq.	dir.	esq.	dir.	esq.	dir.
	165	100	494	318	214	182	375	164
	492	313	128	425	173	209	110	173
	220	66	616	446	186	176	122	231
	314	159	805	457	122	144	258	193
	230	255	106	169	188	437	112	483
	394	182	248	399	179	442	138	329
	415	184	498	459	207	316	449	309
	290	499	190	101	112	268	228	194
	334	276	456	377	179	285	186	240
	258	255	399	269	200	327	205	242
Média	311	229	394	342	176	279	218	256

Análise de variância por postos de KRUSKAL-WALLIS

(I x II x III x IV)

$$\chi^2_{\text{crítico}} = 7,82$$

pulmão esquerdo:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 11,35 \quad p = 0,01^*$$

pulmão direito:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 4,63 \quad p = 0,20$$

*Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A partir da tabela V, os grupos foram comparados dois a dois entre si pelo teste de MANN-WHITNEY.

$$U_{\text{crítico}} = 23,00$$

(pulmão esquerdo)

Grupo I x II	$U_{\text{calculado}} = 39,00$	$(p = 0,43)$
Grupo I x III	$U_{\text{calculado}} = 8,00$	$(p < 0,01)^*$
Grupo I x IV	$U_{\text{calculado}} = 23,00$	$(p = 0,04)^*$
Grupo II x III	$U_{\text{calculado}} = 21,00$	$(p = 0,02)^*$
Grupo II x IV	$U_{\text{calculado}} = 26,00$	$(p = 0,07)$
Grupo III x IV	$U_{\text{calculado}} = 42,00$	$(p = 0,57)$

*Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A partir da tabela V, o pulmão esquerdo foi comparado com o pulmão direito dentro dos quatros grupos, pelo teste de WILCOXON.

$$T_{\text{crítico}} = 8,00$$

(esquerdo X direito)

Grupo I	$T_{\text{calculado}} = 10,00$	$p = 0,07$
Grupo II	$T_{\text{calculado}} = 17,00$	$p = 0,28$
Grupo III	$T_{\text{calculado}} = 4,00$	$p = 0,01^*$
Grupo IV	$T_{\text{calculado}} = 22,00$	$p = 0,57$

*Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A análise estatística da GST, segundo a tabela V, mostrou que:

- ocorreu uma diminuição significativa da GST no pulmão esquerdo nos grupos III e IV;
- ocorreu uma diminuição significativa da GST no pulmão esquerdo em relação ao pulmão direito no grupo III.

Tabela VI – Valores da glutathiona peroxidase (GPx), em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$, de ratos submetidos à isquemia-reperfusão pulmonar, no pulmões esquerdo (esq.) e direito (dir.) nos grupos I (controle), II (pulmão ventilado com O_2 a 21%), III (pulmão ventilado com O_2 a 40%) e IV (pulmão ventilado com O_2 a 100%).

	Grupo I		Grupo II		Grupo III		Grupo IV	
	esq.	dir.	esq.	dir.	esq.	dir.	esq.	dir.
	544	339	715	466	241	264	479	403
	354	370	560	378	249	290	400	640
	243	243	232	303	182	357	481	368
	571	299	690	610	211	213	574	250
	571	377	375	583	619	439	359	422
	465	400	567	589	791	486	469	439
	380	334	306	419	508	402	315	642
	413	392	477	342	420	400	441	243
	488	399	588	386	474	313	424	365
	501	279	611	412	530	375	488	413
Média	453	343	512	448	422	353	443	418

Análise de variância por postos de KRUSKAL-WALLIS

(I x II x III x IV)

$$\chi^2_{\text{crítico}} = 7,82$$

pulmão esquerdo:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 0,07 \quad p = 0,99$$

pulmão direito:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 6,16 \quad p = 0,10$$

A partir da tabela VI, o pulmão esquerdo foi comparado com o pulmão direito dentro dos quatros grupos, pelo teste de WILCOXON.

$$T_{\text{crítico}} = 8,00$$

(esquerdo X direito)

Grupo I	$T_{\text{calculado}} = 9,00$	$p = 0,06$
Grupo II	$T_{\text{calculado}} = 23,00$	$p = 0,64$
Grupo III	$T_{\text{calculado}} = 16,00$	$p = 0,24$
Grupo IV	$T_{\text{calculado}} = 20,00$	$p = 0,76$

A análise estatística da GPx, segundo a tabela VI, mostrou que:

- não ocorreu diferença significativa da GPx no pulmão esquerdo entre os quatro grupos;
- não ocorreu diferença significativa da GPx entre os pulmões esquerdo e direito nos quatro grupos.

Tabela VII – Valores da catalase (CAT), em $\text{mmol min}^{-1} \text{g}^{-1}$, de ratos submetidos à isquemia-reperfusão pulmonar, no pulmão esquerdo (esq.) e direito (dir.) nos grupos I (controle), II pulmão ventilado com O_2 a 21%), III (pulmão ventilado com O_2 a 40%) e IV (pulmão ventilado com O_2 a 100%).

	Grupo I		Grupo II		Grupo III		Grupo IV	
	esq.	dir.	esq.	dir.	esq.	dir.	esq.	dir.
	157	112	162	205	67	56	114	131
	100	175	134	215	60	55	161	76
	81	74	90	144	107	68	67	86
	82	88	193	220	109	71	83	99
	52	72	80	72	107	78	33	62
	40	83	139	143	84	48	40	81
	95	40	78	55	91	50	71	41
	131	125	94	75	86	109	77	39
	99	118	90	130	89	69	76	77
	104	125	78	197	95	82	79	68
Média	94	101	113	145	89	68	79	76

Análise de variância por postos de KRUSKAL-WALLIS

(I x II x III x IV)

$$\chi^2_{\text{crítico}} = 7,82$$

pulmão esquerdo:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 5,18 \quad p = 0,15$$

pulmão direito:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 11,70 \quad p < 0,01^*$$

A partir da tabela VII, os grupos foram comparados dois a dois entre si pelo teste de MANN-WHITNEY.

$$U_{\text{crítico}} = 23,00$$

(pulmão direito)

Grupo I x II	$U_{\text{calculado}} = 28,00$	$(p = 0,10)$
Grupo I x III	$U_{\text{calculado}} = 18,00$	$(p = 0,01)^*$
Grupo I x IV	$U_{\text{calculado}} = 30,00$	$(p = 0,14)$
Grupo II x III	$U_{\text{calculado}} = 14,00$	$(p < 0,01)^*$
Grupo II x IV	$U_{\text{calculado}} = 21,00$	$(p = 0,02)^*$
Grupo III x IV	$U_{\text{calculado}} = 41,00$	$(p = 0,52)$

* Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A partir da tabela VII, o pulmão esquerdo foi comparado com o pulmão direito dentro dos quatros grupos, pelo teste de WILCOXON.

$$T_{\text{crítico}} = 8,00$$

(esquerdo X direito)

Grupo I	$T_{\text{calculado}} = 22,00$	$p = 0,57$
Grupo II	$T_{\text{calculado}} = 9,00$	$p = 0,06$
Grupo III	$T_{\text{calculado}} = 5,00$	$p = 0,02^*$
Grupo IV	$T_{\text{calculado}} = 26,00$	$p = 0,87$

* Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A análise estatística da CAT, segundo a tabela VII, mostrou que:

- não ocorreu diferença significativa da CAT no pulmão esquerdo entre os quatro grupos;
- ocorreu uma diminuição significativa da CAT no pulmão direito no grupo III;
- ocorreu uma diminuição significativa da CAT no pulmão direito nos grupos III e IV em relação ao grupo II.

Tabela VIII - Valores das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), em nmol/g⁻¹, de ratos submetidos à isquemia-reperfusão pulmonar, no pulmão esquerdo (esq.) e direito (dir.) nos grupos I (controle), II (pulmão ventilado com O₂ a 21%), III (pulmão ventilado com O₂ a 40%) e IV (pulmão ventilado com O₂ a 100%).

	Grupo I		Grupo II		Grupo III		Grupo IV	
	esq.	dir.	esq.	dir.	esq.	dir.	esq.	dir.
	43	7	125	129	161	51	98	71
	4	38	51	27	100	102	145	145
	16	24	8	24	94	67	82	71
	82	51	8	12	106	71	63	75
	12	4	94	52	71	94	43	55
	98	41	75	86	27	16	96	47
	31	4	20	20	16	12	24	35
	27	24	63	99	67	114	51	35
	86	129	67	71	106	71	106	75
	103	81	82	75	95	47	98	48
Média	50	40	59	59	84	64	80	65

Análise de variância por postos de KRUSKAL-WALLIS

(I x II x III x IV)

$$\chi^2_{\text{crítico}} = 7,82$$

pulmão esquerdo:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 3,89 \quad p = 0,27$$

pulmão direito:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 5,23 \quad p = 0,15$$

A partir da tabela VIII, o pulmão esquerdo foi comparado com o pulmão direito dentro dos quatros grupos, pelo teste de WILCOXON.

$$T_{\text{crítico}} = 8,00$$

(esquerdo X direito)

Grupo I	$T_{\text{calculado}} = 18,50$	$(p = 0,35)$
Grupo II	$T_{\text{calculado}} = 20,00$	$(p = 0,76)$
Grupo III	$T_{\text{calculado}} = 13,00$	$(p = 0,13)$
Grupo IV	$T_{\text{calculado}} = 8,50$	$(p = 0,09)$

A análise estatística das TBARS, segundo a tabela VIII, mostrou que:

- ocorreu uma tendência de aumento das TBARS nos pulmões esquerdo e direito nos grupos II, III e IV;
- a tendência de aumento das TBARS no pulmão esquerdo foi sempre maior do que no pulmão direito, nos grupos II, III e IV;
- não ocorreu diferença significativa das TBARS entre o pulmão esquerdo e o direito nos quatro grupos.

Tabela IX – Relação do peso pulmonar úmido/seco no pulmão esquerdo, de ratos submetidos à isquemia-reperfusão pulmonar, nos grupos I (controle), II (pulmão ventilado com O₂ a 21%), III (pulmão ventilado com O₂ a 40%) e IV (pulmão ventilado com O₂ a 100%).

	Grupo I	Grupo II	Grupo III	Grupo IV
	4,08	5,76	6,79	6,24
	5,20	6,01	6,27	7,27
	5,36	6,32	5,71	7,03
	6,13	5,57	6,28	6,23
	5,86	5,21	6,75	7,39
	5,52	4,26	6,22	6,19
	4,86	6,62	6,25	5,52
	5,49	5,83	5,07	6,24
	5,35	5,41	6,24	8,09
	6,37	5,30	5,77	6,16
Média	5,42	5,62	6,13	6,26

Análise de variância por postos de KRUSKAL-WALLIS

(I x II x III x IV)

$$\chi^2_{\text{crítico}} = 7,82$$

peso úmido/seco:

$$\chi^2_{\text{calculado}} = 13,23 \quad p < 0,01^*$$

* Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A partir da tabela IX, os grupos foram comparados dois a dois entre si pelo teste de MANN-WHITNEY.

$$U_{\text{crítico}} = 23,00$$

(peso úmido/seco)

Grupo I x II	$U_{\text{calculado}} = 40,00$	$(p = 0,48)$
Grupo I x III	$U_{\text{calculado}} = 19,00$	$(p = 0,01)^*$
Grupo I x IV	$U_{\text{calculado}} = 8,50$	$(p < 0,01)^*$
Grupo II x III	$U_{\text{calculado}} = 28,00$	$(p = 0,10)$
Grupo II x IV	$U_{\text{calculado}} = 16,00$	$(p < 0,01)^*$
Grupo III x IV	$U_{\text{calculado}} = 40,00$	$(p = 0,48)$

*Diferença estatisticamente significativa ($p \leq 0,05$)

A análise estatística da relação do peso pulmonar úmido/seco, segundo a tabela XI, mostrou que:

- ocorreu um aumento significativo na relação do peso pulmonar úmido/seco nos grupos III e IV;
- ocorreu um aumento significativo na relação do peso pulmonar úmido/seco no grupo IV em relação ao grupo II;
- não ocorreu um aumento significativo na relação do peso pulmonar úmido/seco entre os grupos I e II.

5. DISCUSSÃO

A realização do primeiro transplante pulmonar com sucesso, em 1983, tornou esse procedimento uma opção para o tratamento de pacientes com doenças terminais do pulmão.

No entanto, fatores como as dificuldades na obtenção do enxerto pulmonar, a rejeição, as infecções pós-operatórias e as lesões decorrentes da preservação têm dificultado essa modalidade terapêutica na prática clínica.

A qualidade da preservação pulmonar tem sido influenciada, principalmente, pelas alterações decorrentes da isquemia-reperfusão do órgão, que interfere diretamente no resultado do transplante pulmonar.

Durante o período de isquemia, ocorre uma interrupção na oferta de oxigênio e nutrientes à célula, impedindo a manutenção do metabolismo celular aeróbio. Assim, a glicólise torna-se o principal meio de obtenção de energia, porém, sendo menos eficiente, não é adequada para a reposição do trifosfato de adenosina (ATP) consumido pela célula⁵¹⁻⁵³.

O déficit de ATP prejudica o transporte ativo de íons através da membrana celular, levando a um excesso de sódio e cálcio no meio intracelular, o que resulta em edema e ativação de enzimas proteolíticas que podem provocar a morte da célula⁵⁴.

Paralelamente, o metabolismo anaeróbio leva ao acúmulo de hipoxantina e à conversão da enzima xantina-desidrogenase em xantina-oxidase, no pulmão preservado. Ao ocorrer a reperfusão e a reintrodução do oxigênio molecular no metabolismo celular, a hipoxantina, por ação da xantina-oxidase, reage com esse oxigênio liberando substâncias conhecidas como espécies reativas do oxigênio, que apresentam grande poder de lesão celular e tecidual⁵⁵⁻⁵⁸.

Esse dano é conhecido como “lesão da isquemia-reperfusão” e parece ser o fator que mais interfere na disfunção pós-operatória imediata do transplante pulmonar, podendo resultar na falência do órgão transplantado e na conseqüente morte do receptor.

Assim, a minimização da lesão da isquemia-reperfusão constitui-se num aspecto fundamental para o sucesso do transplante pulmonar. Com esse objetivo, as pesquisas estão sendo direcionadas ao estudo da hipotermia, das soluções de preservação e da procura do padrão ventilatório ideal.

A hipotermia reduz o metabolismo e as necessidades energéticas da célula, o que aumenta a viabilidade celular sob isquemia e retarda o aparecimento do metabolismo anaeróbico, resultando numa diminuição da liberação de espécies reativas do oxigênio quando da reperfusão tecidual. A temperatura ideal de preservação parece estar em torno de 10°C, pois temperaturas mais baixas foram relacionadas com alterações irreversíveis da cinética enzimática da célula^{59,60}.

A solução de preservação, infundida pela artéria pulmonar, remove o sangue do leito vascular pulmonar e propicia substrato para a manutenção do metabolismo celular durante o período de isquemia do órgão. Além disso, a solução de preservação pode conter substâncias utilizadas com o objetivo de diminuir a lesão da isquemia-reperfusão, como bloqueadores de canais de cálcio e “varredores” de espécies reativas do oxigênio. Permite também o uso de vasodilatadores que facilitam a instalação e a uniformização da hipotermia e a ação da própria solução de preservação⁶¹⁻⁶³.

O padrão ventilatório, por meio do estado da expansão pulmonar e da concentração alveolar de oxigênio, modifica, de maneira importante, a resposta do pulmão à isquemia-reperfusão^{64,65}.

Em 1971, Veith et al.⁴³ mostraram que pulmões insuflados ou ventilados com oxigênio a 40%, quando comparados a pulmões

atelectasiados, durante a isquemia, apresentaram melhor função pulmonar pós-operatória em cães submetidos a transplante pulmonar.

Do mesmo modo, Locke et al.⁴⁵ (1988) e Puskas et al.⁴⁷ (1992) observaram uma melhor preservação pulmonar no uso de pulmões hiperinsuflados com oxigênio a 100%, quando comparados a pulmões atelectasiados ou pulmões hiperinsuflados com oxigênio a 21%, e essa técnica passou a ser adotada na prática clínica em todo o mundo.

O oxigênio alveolar difundir-se-ia aos tecidos adjacentes durante o período de isquemia, contribuindo para a manutenção dos níveis intracelulares de ATP, o que provavelmente retardaria o aparecimento e diminuiria a intensidade do metabolismo anaeróbio e conseqüentemente a formação de espécies reativas do oxigênio quando da reperfusão tecidual⁶⁶.

Entretanto, quando se efetuou a ventilação com diferentes frações inspiradas de oxigênio (FiO_2) ao invés da hiperinsuflação estática, Van Raemdonck et al.⁶⁷ (1996) mostraram que pulmões ventilados com oxigênio a 21% apresentaram maiores níveis de ATP e menores níveis de hipoxantina, quando comparados a pulmões ventilados com oxigênio a 100%

Do mesmo modo, Zhao et al.⁶⁸ (1997) mostraram um aumento da lesão da isquemia-reperfusão em pulmões ventilados com oxigênio a 100% e relacionaram esse fato a uma maior liberação de espécies reativas do oxigênio.

Por outro lado, Hennington et al.⁶⁹ (1996) referiram piores resultados utilizando a ventilação com oxigênio a 21% em relação à ventilação com oxigênio a 100%, num modelo de isquemia pulmonar normotérmica em cães.

Nesse sentido, essa pesquisa teve por objetivo avaliar o efeito das FiO_2 a 0,21, 0,40 e 1,00 na isquemia-reperfusão pulmonar.

Utilizou-se como parâmetros de avaliação a medida da pressão arterial média sistêmica (PAM), a relação da pressão parcial de oxigênio arterial/fração inspirada de oxigênio (PO_2/FiO_2), a dosagem de antioxidantes

como a glutathiona reduzida (GSH), glutathiona redutase (GR), glutathiona S-transferase (GST), glutathiona peroxidase (GPx) e catalase (CAT), a dosagem das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e a relação do peso pulmonar úmido/seco.

A opção por esses parâmetros foi feita no sentido de avaliar possíveis repercussões em nível local e/ou sistêmico^{54,70}.

A fim de viabilizar o objetivo proposto, os grupos de estudo foram delineados de modo a permitir comparações entre si.

A ventilação com as diferentes FiO_2 , durante o período de isquemia-reperfusão, foi mantida constante nos diferentes grupos, por meio de ventilação mecânica controlada.

O tempo de isquemia foi estipulado em 30 minutos, pois estudos mostraram que esse tempo, em condições de normotermia, detecta possíveis lesões celulares decorrentes da isquemia tecidual^{31,64,71}.

O tempo de reperfusão baseou-se nos trabalhos de Sakamoto et al.⁷², De Campos et al.⁷³ e Halldorsson et al.⁷⁴, que observaram manifestações da lesão da isquemia-reperfusão após 10 minutos de reperfusão pulmonar.

A medida da pressão arterial média sistêmica (PAM) foi realizada com o objetivo de avaliar possíveis efeitos sistêmicos da isquemia-reperfusão pulmonar.

O metabolismo anaeróbico promove um acúmulo de metabólitos tóxicos no tecido isquemiado, que seriam liberados para a circulação sangüínea sistêmica, após a reperfusão, levando à acidose metabólica, hipercalemia, mioglobínúria, insuficiência renal e hipotensão arterial. Segundo Haimovici⁷⁵, a intensidade dessas manifestações seria proporcional à quantidade de substâncias liberadas.

Os resultados da pesquisa, em relação à PAM, mostraram que no tempo zero, imediatamente antes do início da isquemia, não houve diferença

significante entre os grupos. Esse dado sugere que as padronizações estabelecidas na metodologia, especialmente em relação ao método anestésico, não influenciaram na avaliação desse parâmetro.

Os grupos submetidos à isquemia-reperfusão pulmonar mostraram uma diminuição da PAM em relação ao grupo-controle. Essa diminuição foi mais acentuada nos grupos ventilados com oxigênio a 40% e 100%, sendo significativa no grupo ventilado com oxigênio a 40%.

A ventilação com elevadas FiO_2 , durante a isquemia-reperfusão pulmonar, tem sido relacionada a uma maior peroxidação lipídica da membrana celular, o que liberaria ácido aracdônico e, conseqüentemente, levaria à formação de prostaglandinas ^{76,77}. Essas substâncias, apresentando propriedades vasodilatadoras, associar-se-iam aos metabólitos tóxicos formados durante a isquemia e explicariam a maior diminuição da PAM nos grupos ventilados com oxigênio a 40% e 100%.

No grupo ventilado com oxigênio a 21%, durante a isquemia-reperfusão, observou-se uma menor diminuição da PAM. Esse resultado sugere uma menor lesão celular com o uso da ventilação com baixa FiO_2 .

A pressão parcial de oxigênio arterial (PO_2) constitui um dos principais parâmetros de avaliação da isquemia-reperfusão pulmonar, porque reflete de maneira global as lesões decorrentes desse período.

A análise da relação PO_2/FiO_2 , como método de avaliação da função pulmonar, foi realizada para permitir a comparação entre os grupos e diminuir a possibilidade de que as diferenças encontradas fossem determinadas pelo padrão ventilatório.

A função pulmonar depende diretamente da integridade da membrana celular da rede alvéolo-capilar do pulmão, cuja estrutura é particularmente sensível aos fatores que envolvem a isquemia-reperfusão, como a diminuição dos níveis energéticos celulares e a ação de espécies reativas do

oxigênio^{42,78-79}.

Nesse sentido, Hamvas et al.⁸⁰ (1992) mostraram que pulmões insuflados ou ventilados com oxigênio a 40%, quando comparados com pulmões insuflados ou ventilados com nitrogênio (oxigênio a 0%), apresentaram uma maior PO_2 pós-isquemia-reperfusão, e que isso ocorreu, provavelmente, devido a uma menor formação de hipoxantina e xantina-oxidase durante o período de isquemia.

Em 1993, Akashi et al.³² observaram um maior nível de ATP e de surfactante no tecido pulmonar em pulmões mantidos insuflados com oxigênio a 21%, durante a isquemia, resultando em maiores níveis da PO_2 pós-isquemia normotérmica em ratos, quando comparados a pulmões insuflados com nitrogênio ou atelectasiados.

Nesse sentido, Buchanan et al.⁶⁴ (1995), associando o uso do oxigênio a 21% com a ventilação, mostraram que o tempo de isquemia pulmonar normotérmica poderia ser aumentado sem prejuízo da função pulmonar.

Nessa mesma linha de raciocínio, Cardoso³⁶ (1998) mostrou que a ventilação comparada com a insuflação, num modelo de isquemia-reperfusão pulmonar normotérmica em ratos, mantinha maiores níveis de PO_2 e menores níveis de lactato tecidual pulmonar. Pearse et al.⁸¹ (1999) obtiveram resultados semelhantes e sugeriram que os benefícios da ventilação deviam-se a um aumento nos níveis celulares de adenosina-monofostato cíclico (AMPC) e guanosina-monofosfato cíclico (GMPc), que atuariam na manutenção da integridade do endotélio vascular.

Os resultados do presente estudo mostraram que não houve diferença significativa na relação PO_2/FiO_2 entre o grupo ventilado com oxigênio a 21% e o grupo-controle, enquanto nos grupos ventilados com oxigênio a 40% e 100% ocorreu uma diminuição significativa dessa relação.

Esses resultados sugerem benefícios da ventilação pulmonar com

baixa FiO_2 . Isso seria devido a uma oferta constante de oxigênio no alvéolo, em baixas concentrações, que contribuiria para a manutenção do metabolismo celular aeróbio e levaria a uma menor liberação de espécies reativas do oxigênio, decorrentes da reperfusão tecidual.

Resultados semelhantes a essa pesquisa foram observados por Bhabra et al.⁸² (1999), que mostraram uma melhor relação da PO_2/FiO_2 nos pulmões ventilados com oxigênio a 20%, quando comparados aos pulmões ventilados com oxigênio a 100%, num modelo de isquemia-reperfusão pulmonar hipotérmica em ratos.

A possível liberação de espécies reativas do oxigênio foi avaliada por meio da dosagem de substâncias antioxidantes endógenas e de substâncias decorrentes da peroxidação lipídica da membrana celular.

A glutathiona reduzida (GSH) representa o principal antioxidante não-enzimático hidrossolúvel da célula. Essa substância exerce seus efeitos desintoxicantes ao reagir com o peróxido de hidrogênio e outros peróxidos, transformando-se na sua forma oxidada (GSSG). Desse modo, ela contribui para a manutenção da normalidade celular, uma vez que os peróxidos, que são espécies reativas do oxigênio, apresentam um alto poder lesivo à célula⁸³.

Segundo Bryan et al.⁸³ (1991), a utilização de GSH, na solução de preservação em pulmões submetidos a 3 horas de isquemia, mostrou uma diminuição significativa da peroxidação lipídica da membrana celular, o que resultou numa melhor função pulmonar pós-transplante.

Soncul et al.⁸⁴ (1999) mostraram uma diminuição nos níveis teciduais de GSH, após um período de isquemia pulmonar normotérmica, e relacionaram esse fato a um gasto desse antioxidante na neutralização de espécies reativas do oxigênio.

No presente estudo, os valores da GSH mostraram uma diminuição linear com o aumento da FiO_2 nos grupos submetidos à isquemia-reperfusão,

quando comparados com o grupo-controle. No entanto, essa diminuição foi significativa somente no grupo ventilado com oxigênio a 100%.

Esse fato refletiu, provavelmente, uma maior utilização da GSH com o objetivo de neutralizar a maior formação das espécies reativas do oxigênio nos pulmões submetidos à isquemia-reperfusão e ventilados com elevada FiO_2 .

Quando se compararam os valores da GSH no pulmão contra-lateral nos quatro grupos entre si, não se observou diferença significativa entre eles. Isso denota uma ausência ou baixa formação das espécies reativas do oxigênio no pulmão contra-lateral.

Quando se comparou a GSH dentro de cada grupo, ocorreu uma diminuição significativa entre o pulmão esquerdo (pulmão submetido à isquemia-reperfusão) e o pulmão contra-lateral, nos grupos ventilados com oxigênio a 40% e 100% e sem diferença significativa no grupo-controle e no grupo ventilado com oxigênio a 21%.

Esses achados corroboram com o maior consumo da GSH nos grupos submetidos à isquemia-reperfusão com elevadas FiO_2 .

Como no grupo-controle e no grupo ventilado com oxigênio a 21% não houve diferença significativa nos valores da GSH, infere-se que a ventilação com oxigênio a 21% levou a uma menor produção das espécies reativas do oxigênio, a ponto de não se refletir na dosagem dessa substância.

Com isso, a ventilação com oxigênio a 21% foi relacionada a uma menor formação de espécies reativas do oxigênio, sugerindo benefícios com esse padrão ventilatório durante a isquemia-reperfusão pulmonar.

A enzima glutathione redutase (GR) atuaria na conversão da glutathione oxidada (GSSG) para sua forma reduzida (GSH) e, com isso, auxiliaria de modo indireto no sistema antioxidante da célula, pelo mecanismo já referido, ou seja, recuperando e aumentando os níveis de GSH.

Os resultados da pesquisa mostraram uma diminuição significativa da GR nos grupos submetidos à isquemia-reperfusão em relação ao grupo-controle.

Quando se comparou a GR dentro de cada grupo, observou-se uma diminuição significativa no pulmão esquerdo (pulmão submetido à isquemia-reperfusão), em relação ao pulmão contra-lateral, somente no grupo ventilado com oxigênio a 100%.

Isso decorreu, possivelmente, de um maior consumo dessa enzima no grupo ventilado com oxigênio a 100%, no sentido de reduzir a glutatona oxidada (GSSG), que foi formada em maior concentração nesse grupo.

Esses dados sugerem que a ventilação com oxigênio a 100% relacionou-se a uma maior formação das espécies reativas do oxigênio, enquanto a ventilação com baixa FiO_2 associou-se a uma menor formação dessas substâncias, no tecido pulmonar, após a isquemia-reperfusão.

A glutatona S-transferase (GST) participa no processo de defesa celular, ao biotransformar metabólitos tóxicos exógenos e endógenos em compostos menos tóxicos, e facilita a excreção destes compostos pelo organismo. Essa ação depende da GSH que atua como um cofator nesse processo.

Os resultados da pesquisa mostram uma diminuição significativa da GST nos grupos submetidos à ventilação com oxigênio a 40% e 100%.

Quando se comparou a GST dentro de cada grupo, ocorreu uma diminuição significativa dessa enzima no pulmão esquerdo (pulmão submetido à isquemia-reperfusão), quando comparada ao pulmão contra-lateral, no grupo ventilado com oxigênio a 40%.

Esses dados sugerem que a diminuição da atividade dessa enzima deveu-se, provavelmente, à maior depleção da GSH observada nos grupos ventilados com altas FiO_2 .

A glutathiona peroxidase (GPx) e a catalase (CAT) também constituem-se em antioxidantes importantes, pois, de modo semelhante à ação detoxificadora da GSH, catalisam a redução de peróxidos de hidrogênio e outros peróxidos em água e oxigênio, e com isso diminuiriam a ação lesiva de espécies reativas do oxigênio ⁸⁵.

O resultado obtido das enzimas GPx e CAT, nessa pesquisa, não apresentaram alterações significantes entre os grupos.

Achados semelhantes obtiveram Bryan et al. ⁸³ (1991), quando compararam pulmões ventilados com oxigênio a 20% e 100%, durante o período de isquemia pulmonar.

Segundo Comhair et al. ⁸⁵ (2000), essas enzimas necessitariam de mais de 12 horas de exposição à hiperóxia, para alterarem seus valores de maneira significativa.

A dosagem das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) tem sido um dos métodos mais comumente utilizado no estudo da isquemia-reperfusão tecidual e avalia de modo quantitativo a lesão oxidativa ⁸⁶.

As TBARS correspondem a metabólitos originados pela destruição da membrana celular em consequência da ação lesiva de espécies reativas do oxigênio sobre essa estrutura celular.

Entre essas espécies, destaca-se o radical hidroxila, formado pela reação do ânion superóxido com o peróxido de hidrogênio, por meio da reação de Fenton ou Haber-Weiss, constituindo-se num dos metabólitos mais lesivos à célula ⁸⁷.

Esse radical apresenta uma grande afinidade por lipídios e proteínas da membrana celular, o que provoca uma reação em cadeia com alto poder de destruição celular que se refletirá num aumento dos níveis de TBARS.

Fisher et al. ⁸⁸ (1991), estudando a influência da FiO₂ na isquemia-reperfusão pulmonar, mostraram que a ventilação com oxigênio a 50% ou

95%, quando comparada com a ventilação com oxigênio a 5% ou 20%, apresentaram maiores níveis das TBARS, sugerindo maior peroxidação lipídica com altas FiO_2 . Sugeriram também que esse fenômeno teria seu início já na fase de isquemia.

Os resultados obtidos, nesse estudo, mostraram uma tendência de aumento nos valores das TBARS nos grupos submetidos à isquemia-reperfusão e que apresentou relação direta com a elevação da FiO_2 na ventilação pulmonar.

Deduziu-se que a ventilação com elevadas FiO_2 promoveu uma maior formação das espécies reativas do oxigênio, quando comparadas à ventilação com baixa FiO_2 .

A relação do peso pulmonar úmido/seco reflete o edema pulmonar decorrente da isquemia-reperfusão.

Bleiweiss et al.⁸⁹ (1999) observaram uma relação entre o coeficiente de filtração capilar e a relação do peso pulmonar úmido/seco, num modelo de isquemia-reperfusão pulmonar normotérmica em ratos.

Esse edema pulmonar resultaria de uma disfunção do endotélio vascular e seria mediado, principalmente, pela liberação das espécies reativas do oxigênio e por um desequilíbrio entre substâncias vasodilatadoras e vasoconstritoras⁹⁰.

O predomínio de substâncias vasoconstritoras atuaria nas propriedades contráteis das células endoteliais e, com isso, alteraria as funções da barreira endotelial, resultando num aumento da permeabilidade capilar. Essa ação parece ser mediada pelos níveis celulares de adenosina-monofostato cíclico (AMPc) e guanosina-monofostato cíclico (GMPc)^{89,91,92}.

Esses fatos têm justificado a utilização de substâncias como a prostaglandina E_1 (PGE_1) e o óxido nítrico (NO), no intuito de diminuir a

lesão da isquemia-reperfusão. Essas substâncias, além de produzirem vasodilatação, participariam na redução da agregação leucocitária e plaquetária e na supressão do fator de necrose tumoral^{93,94}.

Além disso, a vasoconstrição pioraria a perfusão tecidual local, podendo intensificar os mecanismos que envolvem a lesão da isquemia-reperfusão.

O resultado desse experimento mostrou um aumento progressivo na relação do peso pulmonar úmido/seco, nos grupos submetidos à isquemia-reperfusão, de modo linear com o aumento da FiO_2 , sendo significativo nos grupos ventilados com oxigênio a 40% e 100%.

Os resultados sugerem que a ventilação pulmonar com elevadas FiO_2 provocaram maior lesão tecidual, o que resultou num aumento do edema pulmonar nos grupos ventilados com oxigênio a 40% e 100%. Provavelmente, isso deveu-se a uma maior ação das espécies reativas do oxigênio nesses grupos que, além de causarem lesão celular direta, estimularam a produção de mediadores inflamatórios, contribuindo para um aumento da permeabilidade capilar e formação do edema pulmonar.

Esses dados corroboram os de Fisher et al.⁸⁸ (1991) e Bleiweiss et al.⁸⁹ (1999), que mostraram uma diminuição do edema pulmonar, decorrente da isquemia-reperfusão, nos pulmões ventilados com FiO_2 à 0,20.

Numa avaliação global, os resultados da pesquisa sugeriram que a ventilação pulmonar com FiO_2 a 0,21 se correlacionou com uma menor lesão decorrente da isquemia-reperfusão pulmonar.

Isso ocorreu, provavelmente, em decorrência de uma oferta constante de oxigênio no alvéolo, durante o período de isquemia, o que permitiu uma melhor difusão do oxigênio aos tecidos vizinhos, retardando o metabolismo anaeróbio. Possivelmente, somaram-se os benefícios da própria manutenção da ventilação, como a maior produção de surfactante, maior homogeneidade

da distensão alveolar e uma diminuição da pressão de reperfusão.

Ao considerar-se os dados da literatura referentes ao uso do oxigênio em altas concentrações, verificou-se que o mesmo é benéfico quando utilizado em hiperinsuflação o uso do oxigênio em altas concentrações associado à ventilação, observaram-se efeitos deletérios no seu uso. Essa elevada FiO_2 ofereceria uma maior quantidade de oxigênio molecular ao tecido isquemiado e, portanto, com níveis elevados de xantina-oxidase, permitindo a liberação das espécies reativas do oxigênio, já durante a fase de isquemia. Esse fato seria intensificado com a reperfusão.

Portanto, a manutenção da ventilação com baixa FiO_2 , durante a isquemia-reperfusão pulmonar, parece proporcionar uma melhor função pulmonar após esse fenômeno. No entanto, esses achados precisam ser reproduzidos no transplante experimental, antes que se proponha o seu uso na área clínica.

6. CONCLUSÃO

A ventilação com fração inspirada de oxigênio a 0,21, quando comparada à ventilação com frações inspiradas de oxigênio a 0,40 e 1,00, durante o período de isquemia-reperfusão pulmonar normotérmica, mostrou uma menor diminuição da pressão arterial média sistêmica, uma melhor relação da pressão parcial de oxigênio arterial/fração inspirada de oxigênio, maiores valores nas medidas da glutathiona reduzida, glutathiona redutase e glutathiona S-transferase, uma menor produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico e uma menor formação de edema pulmonar.

7. REFERÊNCIAS

1. Bollinger RR, Stickel DL. Transplantation: historical aspects of transplantation. In: Sabiston DC Jr, editors. Textbook of surgery: the biological basis of modern surgical practice. 13th ed. Philadelphia : W.B. Saunders Company; 1986. p. 370-80.
2. Pinsky DJ. The vascular biology of heart and lung preservation for transplantation. *Thromb Haemost* 1995;74:58-65.
3. Southard JH. Organ preservation. *Annu. Rev. Med* 1995;46:235-47.
4. Hardy JD, Webb WR, Dalton ML, Walker GR. Lung homotransplantation in man. Report of initial case. *Jama* 1963;186:1065-74.
5. Pasque MK, Cooper JD, Kaiser LR, Haydock DA, Triantafillou A, Trulock EP. Improved technique for bilateral lung transplantation: rationale and initial clinical experience. *Ann Thorac Surg* 1990;49:785-91.
6. Trulock EP. Management of lung transplantation rejection. *Chest* 1993;103:1566-76.
7. Kirk AJB, Colquhoun IW, Dark JH. Lung preservation: a review of current practice and future directions. *Ann Thorac Surg* 1993;56:990-1000.
8. Shennib H, Massard G. Airway complications in transplantation. *Ann Thorac Surg* 1994;57:506-11.
9. Norgaard MA, Olsen PS, Svendsen UG, Pettersson G. Revascularization of the bronchial arteries in lung transplantation: An overview. *Ann Thorac Surg.* 1996;62:1215-21.

10. Grover FL, Furllerton DA, Zamora MR, Mills C, Ackerman B, Badesch D, et al. The past, present, and future of lung transplantation. *Am J Surg* 1997;173:523-33.
11. Cooper JD, Ginsberg RJ, Goldberg M, Patterson GA, Pearson FG, Todd TRJ, et al. Unilateral lung transplantation for pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 1986;314:1140-1145
12. Egan TM, Westerman JH, Lambert CJ Jr, Detterbeck FC, Thompson JT, Mill MR, et al. Isolated lung transplantation for end-stage lung disease: a viable therapy. *Ann Thorac Surg* 1992;53: 590-6.
13. Meyers BF, Patterson GA. Lung transplantation: current status and future prospects. *World J Surg* 1999;23:1156-62.
14. King RC, Bins OAR, Rodriguez F, Kanithanon RC, Daniel TM, Spotnitz WD, et al. Reperfusion injury significantly impacts clinical outcome after pulmonary transplantation. *Ann Thorac Surg* 2000;69:1681-5.
15. Loehe F, Mueller C, Annecke T, Siebel A, Bittmann I, Messmer KFW, et al. Pulmonary graft function after long-term preservation on non-heart-beating donor lungs. *Ann Thorac Surg* 2000;69:1556-62.
16. Egan TM, Lambert CJ Jr, Reddick R, Ulicny KS Jr, Keagy BA, Wilcox BR. A strategy to increase the donor pool: use of cadaver lungs for transplantation. *Ann Thorac Surg* 1991;52:1113-21.
17. Cohen RG, Barr ML, Schenkel FA, DeMeester TR, Wells WJ, Starnes VA. Living-related donor lobectomy for bilateral lobar transplantation in patients with cystic fibrosis. *Ann Thorac Surg*. 1994;57:1423-8.
18. Keller CA. The donor lung: conservation of a precious resource. *Thorax* 1998;53:506-13.
19. Unruh HW. Lung preservation and lung injury. *Chest Surg Clin N Am* 1995;5:91-106.

20. Ueno T, Snell GI, Williams TJ, Kotsimbos TC, Smith JA, Rabinov M, Esmore DS. Impact of graft ischemic time on outcomes after bilateral sequential single-lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 1999;67:1577-82.
- 21 Fisher S, Hopkinson D, Liu M, Keshavjee S. Raffinose improves the function of rat pulmonary grafts stored for twenty-four hours in low-potassium dextran solution. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2000;119:488-92.
22. Khan SU, Salloum J, O'Donovan PB, Mascha EJ, Metha AC, Matthay MA, et al. Acute pulmonary edema after lung transplantation. *Chest* 1999;116:187-194.
23. Hillinger S, Schoedon G, Walter R, Zollinger A, Stammberger U, Speich R, et al. Reduction of lung allograft ischemia/reperfusion injury by tetrahydrobiopterin coenzyme of NOS. *Transplant Proc* 1999;31:183-4.
24. Kukreja RC, Hess ML. The oxygen free radical system: from equations through membrane-protein interactions to cardiovascular injury and protection. *Cardiovasc Res* 1992;26:641-55.
25. Boyle EM Jr, Pohlman TH, Johnson MC, Verrier ED. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the systemic inflammatory response. *Ann Thorac Surg* 1997;63:277-84.
26. Menger MD, Vollmar B. Role of microcirculation in transplant. *Microcirculation* 2000;7:291-306.
27. Uemori Y, Date H, Uno K, Aoe M, Ando A, Shimizu N. Improved lung function by urokinase infusion in canine lung transplantation using non-heart beating donors. *Ann Thorac Surg* 1995;59:1513-8.
28. Stammberger U, Schmid RA, Hillinger S, Singer T, Schob OM, Zollinger A, et al. Effect of a short period of warm ischemia after cold preservation on reperfusion injury in lung allotransplantation. *Eur J Cardiothorac Surg* 1998;13:442-448.

29. Greco R, Cordovilla G, Sanz E, Benito J, Criado A, Gonzalez M, et al. Warm ischemic time tolerance after ventilated non-heart beating lung donation in piglets. *Eur J Cardiothorac Surg* 1998;14:319-25.
30. Hillinger S, Schimid RA, Stammberger U, Boehler A, Schob OM, Zollinger A, et al. Donor and recipient treatment with the Lazaroid U-74006F do not improve post-transplant lung function in swine. *Eur J Cardiothorac Surg* 1999;15:475-80.
31. Boglione MM, Morandini MA, Barrenechea ME, Rubio RA, Aguilar D. Pre-arrest heparinization and ventilation during warm ischemia preserves lung function in non-heart-beating donors. *J Pediatr Surg* 1999;34:1805-09.
32. Akashi A, Nakahara K, Kamiike W, Matsumura A, Hatanaka N, Kawashima Y, et al. Attenuation of warm ischemic injury of rat lung by insufflation with room air – assesment of cellular components and the surfactant in the bronchoalveolar lavage fluid in relation to changes in cellular adenosine triphosphate. *Transplantation* 1993;55:24-30.
33. Buchanan AS, Mauney MC, Parekh VI, DeLima NF, Binns OAR, Cope JT, et al. Intratracheal surfactant administration preserves airway compliance during lung reperfusion. *Ann Thorac Surg* 1996;62:1617-21
34. Husen B, Ramsamooj R, Hewitt CW, Schroder F, Beuke M, Poets CF, et al. The importance of static lung inflation during organ storage. *Transplantation* 1996;62: 1720-1725.
35. Leyn PRJ, Lerut TE, Schreinemakers HHJ, Van Raemdonck DEM, Mubagwa K, Flameng W. Effect on inflation on adenosine triphosphate catabolism and lactate production during normothermic lung ischemia. *Ann Thorac Surg* 1993;55:1073-9.
36. Cardoso JJD. Efeito da ventilação na isquemia-reperfusão pulmonar em ratos. [Tese]. São Paulo (SP): UNIFESP; 1998.

37. Ulicny KS Jr, Egan TM, Lambert CJ Jr, Reddick RL, Wilcox BR. Cadaver lung donors: effect of preharvest ventilation on graft function. *Ann Thorac Surg* 1993;55:1185-91.
38. Okuda M, Furuhashi K, Nakai Y, Muneyuki M. Decrease of ischaemia-reperfusion related lung edema by continuous ventilation and allopurinol in rat perfusion lung model. *Scand J Clin Lab Invest* 1993;53:625-31.
39. Van Raemdonck DEM, Jannis NCP, De Leyn PRJ, Flameng WJ, Lerut TE. Alveolar expansion itself but not continuous oxygen supply enhances postmortem preservation of pulmonary grafts. *Eur J Cardiothorac Surg* 1998;13:431-441.
40. Bishop MJ, Holman RG, Guidotti SM, Alberts MK, Chi EY. Pulmonary artery occlusion and lung collapse depletes rabbit lung adenosine triphosphate. *Anesthesiology* 1994;80:611-7.
41. D'Armini AM, Lemasters JJ, Egan TM. Studies of rat lung viability and adenine nucleotide metabolism after death. *Ann Thorac Surg* 1996;62:1448-53.
42. Fukuse T, Hirata T, Nakamura T, Kawashima M, Hitomi S, Wada H. Influence of deflated and anaerobic conditions during cold storage on rat lungs. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:621-627.
43. Veith FJ, Sinha SBP, Graves JS, Boley SJ, Dougherty JC. Ischemic tolerance of the lung. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1971;61:804-10.
44. Kuang JQ, Van Raemdonck DEM, Jannis NCP, Leyn PRJ, Verbeken EK, Flameng WJ, et al. Pulmonary cell death in warm ischemic rabbit lung is related to alveolar oxygen reserve. *J Heart Lung Transplant* 1998;17:406-14.
45. Locke TJ, Hooper TL, Flecknell PA, McGregor CGA. Preservation of the lung: comparison of topical cooling and cold crystalloid pulmonary perfusion. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988;96:789-95.

46. Weder W, Harper B, Shimokawa S, Miyoshi S, Date H, Schreinemakers H, et al. Influence of intraalveolar oxygen concentration on lung preservation in a rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1991;101:1037-43.
47. Puskas JD, Takashi H, Cristie N, Mayer E, Slutsky AS, Patterson GA. Reliable thirty-hour lung preservation by donor lung hyperinflation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1992;104:1075-83.
48. Koyama I, Toung TJK, Gurtner GH, Traystman RJ. O₂ radicals mediate reperfusion lung injury in ischemic O₂-ventilated canine pulmonary lobe. *J Appl Physiol* 1987;63:111-5.
49. Detterbeck FC, Keagy BA, Paull DE, Wilcox BR. Oxygen free radical scavengers decrease reperfusion injury in lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 1990;50:204-10.
50. Siegel S. Estatística não-paramétrica. Ed. McGraw-Hill São Paulo 1975. 350p.
51. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985;312:159-63.
52. Becker PM, Pearse DB, Sylvester JT. Effects of oxygen tension and glucose concentration on ischemic injury in ventilated ferret lungs. *J Appl Physiol* 1993;75:1233-37.
53. Detry O, Willet K, Lambermont B, Meurisse M, Pincelmail J, Serteyn D, et al. Comparative effects of University of Wisconsin and Euro-Collins solutions on pulmonary mitochondrial function after ischemia and reperfusion. *Transplantation* 1998;65:161-6.
54. Pinheiro BV. Lesão pulmonar de reperfusão. *J Pneumol* 1999;25:124-36.
55. Waintrub ML, Terada LS, Beehler CJ, Anderson BO, Leff JA, Repine JE. Xanthine oxidase is increased and contributes to paraquat-induced acute lung injury. *J Appl Physiol* 1990;68:1755-7.

56. Cohen PJ. Allopurinol administered prior to hepatic ischaemia in the rat prevents chemiluminescence following restoration of circulation. *Can J Anaesth* 1992;39:1090-3.
57. Poggetti RS, Moore FA, Moore EE, Koeike K, Banerjee A. Simultaneous liver and lung injury following gut ischemia is mediated by xanthine oxidase. *J Trauma* 1992;32:723-8.
58. Schemmer P, Connor HD, Arteel GE, Raleigh JA, Bunzendahl H, Mason R, et al. Reperfusion injury in livers due to gentle in situ organ manipulation during harvest involves hypoxia and free radicals. *Pharmacol Ther* 1999;290:235-40.
59. Van Raemdonck DEM, Jannis NCP, Rega FRL, De Leyn PRJ, Flameng WJ, Lerut TE. External cooling of warm ischemic rabbit lungs after death. *Ann Thorac Surg* 1996;62:331-7.
60. Steen S, Ingemansson R, Budrikis A, Bolys R, Roscher R, Sjoberg R. Successful transplantation of lungs typically cooled in the non-heart beating donor for 6 hours. *Ann Thorac Surg* 1997;63:345-51.
61. Novick RJ, German KE, Ali IS, Lee J. Lung preservation: the importance of endothelial and alveolar type II cell integrity. *Ann Thorac Surg* 1996;62:302-14.
62. Roberts RF, Nishanian GP, Carey JN, Darbinian SH, Kim JD, Sakamaki Y, et al. Addition of aprotinin to organ preservation solutions decreases lung reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1998;66:225-30.
63. Kelly RF. Current strategies in lung preservation. *J Lab Clin Med* 2000; 136:427-40.
64. Buchanan AS, DeLima NF, Binns OAR, Mauney MC, Cope JT, Langenburg SE, et al. Pulmonary function after non-heart beating lung donation in survival model. *Ann Thorac Surg* 1995;60:38-46.

65. Srinivasan HB, Vogel SM, Vidyasagar D, Malik AB. Protective effect of lung inflaton in reperfusion-induced lung microvascular injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;278:H951-7.
66. Date H, Matsumura A, Manchester JK, Cooper JM, Lowry OH, Cooper JD. Changes in alveolar oxygen and carbon dioxide concentration and oxygen consumption during lung preservation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1993;105:492-501.
67. Van Raemdonck DEM, Jannis NCP, Rega FRL, De Leyn PRJ, Flameng WJ, Lerut TE. Delay of adenosine triphosphate depletion and hypoxanthine formation in rabbit lung after death. *Ann Thorac Surg* 1996;62:233-41.
68. Hennington MH, D'Armini AM, Lemasters JJ, Egan TM. Cadavers lungs for transplantation. *Transplantation* 1996;61:1009-14.
69. Zhao G, Al-Medhi AB, Fisher AB. Anoxia-reoxygenation versus ischemia in isolated rat lungs. *Am J Physiol* 1997;273:1112-7.
70. Watanabe E, Kawaharada N, Kusajima K, Komatsu S, Takahashi H. Contralateral lung injury associated with single-lung ischemia-reperfusion injury. *Ann Thorac Surg* 1996;62:1644-9.
71. Castro MAA, Madruga GSP, Silva UL, Bock P, Klein AB, Felicetti JC, et al. Quantificação dos produtos de peroxidação lipídica em modelo experimental de injúria de reperfusão pulmonar em ratos. *J Pneumol* 1996;22:65-8.
72. Sakamoto T, Yamashita C, Okada M. Efficacy of initial controlled perfusion pressure for ischemia-reperfusion injury in a 24-hour preserved lung. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 1999;5:21-6.
73. DeCampos KN, Keshavjee S, Slutsky AS, Liu M. Alveolar recruitment prevents rapid-reperfusion-induced injury of lung transplants. *J Heart Lung Transplant* 1999;18:1096-102.

74. Halldorsson AO, Kronon MT, Allen BS, Rahman S, Wang T. Lowering reperfusion pressure reduces the injury after pulmonary ischemia. *Ann Thorac Surg* 2000;69:198-204.
75. Haimovici M. Muscular, renal and metabolic complications of acute arterial occlusions. *Surgery* 1979;85:461-8.
76. Hansbrough JF, Wikstrom T, Braide M, Tenenhaus M, Rennekampff OH, Kiessig V, et al. Neutrophil activation and tissue neutrophil sequestration in a rat model of thermal injury. *J Surg Res* 1996;61:17-22.
77. Tanita T, Song C, Kubo H, Hoshikawa Y, Ueda S, Fujimura S. Superoxide possibly produced in endothelial cells mediates the neutrophil-induced lung injury. *Ann Thorac Surg* 2000;69:402-8.
78. Al-Mehdi AB, Zhao G, Fisher AB. ATP-independent membrane depolarization with ischemia in the oxygen-ventilated isolated rat lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1998;18:653-661.
79. Muzykantov VR. Targeting of superoxide dismutase and catalase to vascular endothelium. *J Control Release* 2001;71:1-21.
80. Hamvas A, Park Cpalazzo R, Liptay M, Cooper J, Schuster DP. Modifyng pulmonary ischemia-reperfusion injury by altering ventilatory strategies during ischemia. *J Appl Physiol* 1992;73:2112-19.
81. Pearse DB; Wagner EM; Permutt S. Effect of ventilation on vascular permeability and cyclic nucleotide concentrations in ischemic sheep lungs. *J Appl Physiol* 1999;86:123-32.
82. Bhabra MS, Hopkinson DN, Shaw TE, Hooper TL. Modulation of lung reperfusion injury by nitric oxide. *Transplantation* 1999;68:1238-43.

83. Bryan CL, Cohen DJ, Dew JA, Trinkle JK, Jenkinson SG. Glutathione decreases the pulmonary reimplantation response in canine lung autotransplants. *Chest* 1991;100:1694-1702.
84. Soncul H, Oz E, Kalaycioglu S. Role of ischemic preconditioning on ischemia-reperfusion injury of the lung. *Chest* 1999;115:1672-77.
85. Comhair SAA, Thomassen MJ, Erzurum SC. Differential induction of extracellular glutathione peroxidase and nitric oxide synthase 2 in airways of healthy individuals exposed to 100% O₂ or cigarette. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;23:350-354.
86. Sakamak F, Hoffmann H, Muller C, Dienemann H, Messmer K, Schildberg FW. Reduced lipid peroxidation and ischemia-reperfusion injury after lung transplantation using low potassium dextran solution for lung preservation. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1073-1081.
87. Zhao G, Ayene IS, Fisher AB. Role of iron in ischemia-reperfusion oxidative injury of rat lungs. *Am. J Respir Cell Mol Biol* 1997;16:293-99.
88. Fisher AB, Dodia C, Tan Z, Ayene I, Eckenhoff RG. Oxygen-dependent lipid peroxidation during lung ischemia. *J Clin Invest* 1991;88:674-9.
89. Bleiweis MS, Jones DR, Hoffmann SC, Becker RM, Egan TM. Reduced ischemia-reperfusion injury with rolipram in rat cadaver lung donor: effect of cyclic adenosine monophosphate. *Ann Thorac Surg* 1999;67:194-200.
90. Chiang C, Wu K, Yu C, Yan H, Perng W, Wu C. Hypothermia and prostaglandin E₁ produce synergistic attenuation of ischemia-reperfusion lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1319-1323.
91. Miller DL, Roberts AM. Pulmonary artery occlusion and reperfusion causes microvascular constriction in the rabbit lung. *Ann Thorac Surg* 1999;67:323-8.

92. Hillinger S, Schmid R, Sandera P, Stammberger U, Schneider D, Schoedon G, et al. 8-Br-cGMP is superior to prostaglandin E₁ for lung preservation. *Ann Thorac Surg* 1999;68:1138-43.
93. Lindberg L, Sjoberg T, Ingemansson R, Steen S. Inhalation of nitric oxide after lung transplantation. *Ann Thorac Surg* 1996;61:956-62.
94. Chang D, Hsu K, Ding Y, Chiang C. Interleukin-1 in ischemia-reperfusion acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:1230-1234.

NORMAS ADOTADAS

Normas para elaboração de dissertação do Curso de Mestrado em Ciências Médicas. Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Mestrado em Ciências Médicas. Florianópolis-SC, 2001.

DeCS – Descritores em Ciências da Saúde. 3. ed. São paulo, Bireme, 1996.

International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *Ann Inter Med* 1997;126:36-47.

International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature – Nomina anatomica veterinaria. 3. ed. New York, Ithaca, 1983. 216 p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. NBR 14724: informação e documentação: trabalhos acadêmicos: apresentação. Rio de Janeiro, 2001.

APÊNDICE

PROTOCOLO DE PESQUISA (SILVEIRA, RJ)

Dia: _____

Grupo: _____

Temp. (°C): _____

Rato N.: _____

Peso: _____

VAC: _____

Procedimentos:Horário:Dados:

Pré-anestesia e anestesia

Traq., Laparot. e PAM

Toracot.e Dissecção Hilo E.

To – PAM

PO₂

Pinçamento (ISQUEMIA):

T₃₀ – PAM

PO₂

Despinçamento (REPERFUSÃO):

T₄₀ – PAM

PO₂

Irrigação Pulmonar: _____

Pneumonectomias esquerda e direita: _____

Esquerdo

Direito

GSH: _____

GR: _____

GST: _____

GPx: _____

CAT: _____

TBARS: _____

Peso Pulmonar

Úmido

Seco

ANEXO

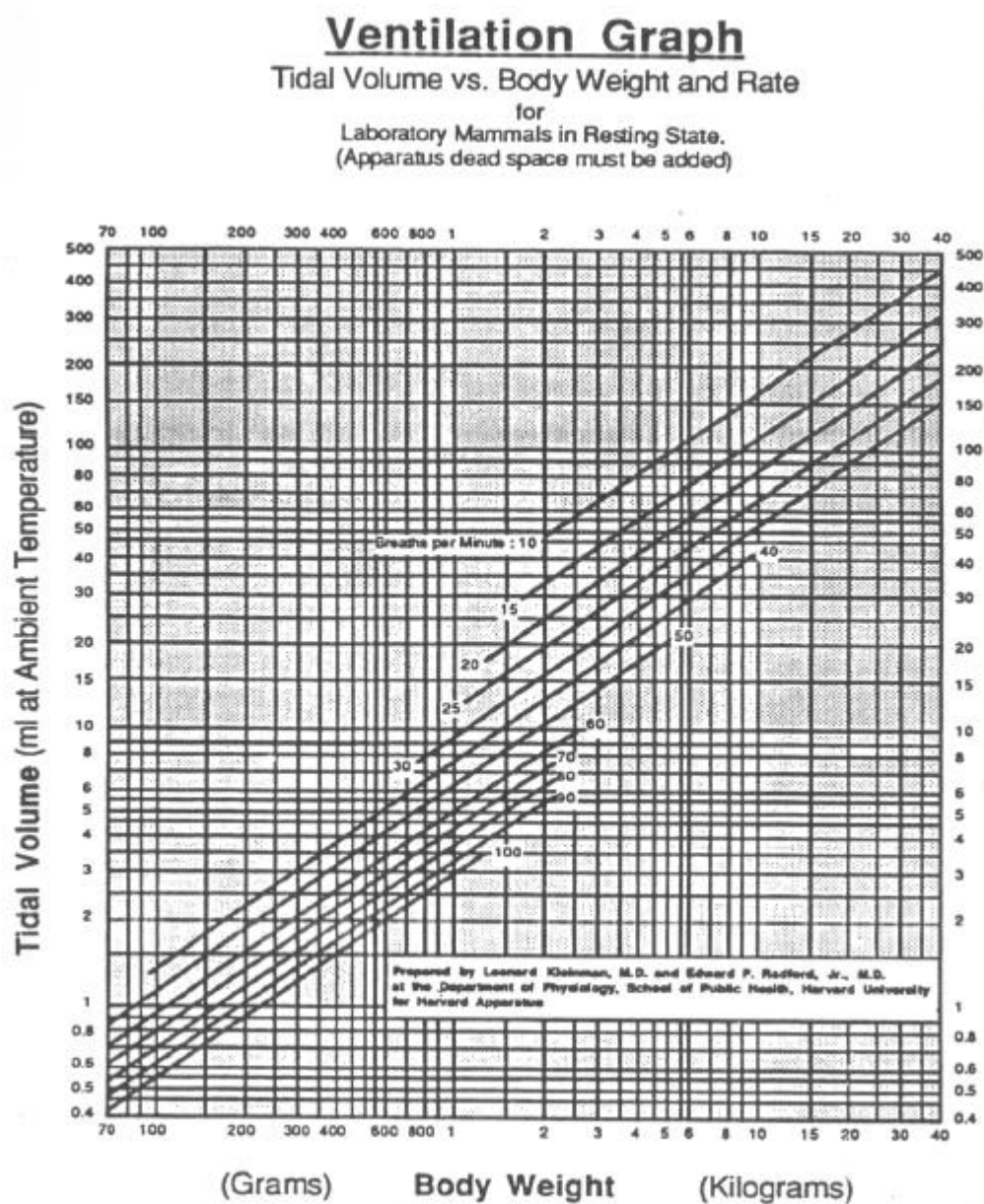
Anexo A - Aparelho de ventilação mecânica HARVARD 683

Harvard volume controlled rodent respirator, model 683.

HARVARD APPARATUS, INC.

SOUTH NATICK, MA, USA

Anexo B - Curva de KLEINMAN & RADFORD



Anexo C - Cilindros de oxigênio

Método de preparação: gravimétrico

Método de análise: paramagnetismo

Origem: White Martins Gases Industriais SA

Oxigênio a 40% - balanço em nitrogênio (60%)

Oxigênio a 100%

Sartorius Basic BA210S

Schnittlenbeschreibung – German

Anexo E - Gasômetro

Automatic blood gas system.

Medical Instrument

AVL LIST GMBH MEDIZINTECHNIK

GRAZ, AUSTRIA

Anexo F - Dosagem das Substâncias

Aparelho : ESPECTROFOTÔMETRO

GBC – UV

Austrália

Preparação das amostras: os pulmões retirados dos animais foram imediatamente colocados em gelo. Uma pequena porção foi separada e pesada para a preparação dos homogenatos, obtidos em tampão fosfato de sódio 20 mM, pH 7,4 contendo 0,1% de Triton X-100 e 150 mM de cloreto de sódio (1:20 p/v). A homogenização foi realizada a 4°C, com cerca de 20 impactos em homogeneizador Potter-Elvehjem, seguidos de centrifugação a 10000 g durante 10 minutos. Os sobrenatantes foram mantidos a -20°C até a sua utilização para as diferentes análises enzimáticas (GR, GST, GPx, CAT e TBARS), por meio de espectrofotometria. Para análise da glutathiona reduzida (GSH), uma porção dos pulmões foram precipitadas com ácido tricloroacético a 12% (1:20p/v) e homogeneizadas com cerca de 20 impactos em homogeneizador Potter-Elvehjem, seguidos de centrifugação a 10000 g durante 10 minutos, sendo a análise realizada nesses sobrenadantes.

Glutathiona Reduzida (GSH): para avaliar a concentração pulmonar de pequenos tióis em precipitado ácido, foi empregado o método de Beutler. A adição de ácido 2-nitrobenzóico 2,5 mM (DTNB) nas cubetas contendo tampão Tris-HCL 0.2 M pH 8,0 e amostra correspondente permitiam, após cerca de 3 minutos, a obtenção máxima de formação do ânion tiolato (TNB) de cor amarela, mensurável em 412 nm. As concentrações obtidas nesse ensaio foram expressas em mM.

Glutathione Redutase (GR): o método utilizado para a análise da atividade dessa enzima foi o de Carlberg & Mannervick, onde se verifica, durante 30 segundos, em 340 nm, a taxa de oxidação do NADPH devido à redução da GSSG pela GR presente na amostra, em um meio de reação contendo tampão fosfato 0,1 M pH 7,0, NADPH 1mM, GSSG e DPTA 5mM. Os valores da atividade dessa enzima foram expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$.

Glutathione S-Transferase (GST): a atividade da glutathione S-transferase foi medida espectrofotometricamente em 340 nm, de acordo com Keen. A amostra foi adicionada em um meio contendo 1-cloro-2,4-dinitrobenzeno 0,1 M (CDNB), glutathione reduzida 0,1 M (GSH) e tampão fosfato 0,1 M pH 7,0, contra um branco de tampão fosfato 0,1 M pH 7,0. As análises foram feitas em duplicatas e os valores da atividade da enzima expressas em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$.

Glutathione Peroxidase (GPx): realizado segundo Flohé & Gunzler, utilizou-se amostra e ter-butilhidroperóxido (t-BuOOH) 10mM colocados em meio de reação composto de tampão fosfato 0,1 M, pH 7,0, NADPH 1mM, ácido dietilenotriaminopentaacético (DPTA) 0,005 M, pH 7,0, água destilada, GSH 10mM, e 5U de GR colocada momentos antes do ensaio. Esse ensaio baseia-se na medida do decréscimo de absorbância (340 nm) promovido durante a redução da GSSG, catalisada pela GR, em presença de NADPH. A velocidade de oxidação do NADPH é proporcional à velocidade de produção de GSSG a partir da GSH em presença de t-BuOOH, catalisada pela GPx. Os valores da atividade desta enzima foram expressos em $\mu\text{mol min}^{-1} \text{g}^{-1}$.

Catalase (CAT): para análise da atividade dessa enzima, utilizou-se o método descrito por Aebi, que quantifica a velocidade de decomposição do peróxido de hidrogênio, em 240 nm durante 20 segundos, pela enzima presente na amostra. Utilizou-se a solução de peróxido de hidrogênio 10 mM em tampão fosfato 50 mM pH 7,0 preparada e titulada no dia da análise. As amostras foram analisadas em duplicatas, sendo os valores expressos em $\text{mmol min}^{-1} \text{g}^{-1}$.

Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico (TBARS): a avaliação dessas substâncias foram realizadas em triplicatas, através da detecção em $A_{535} \text{ nm}$, dos derivados de seus produtos de oxidação, através de substâncias que reagem com o ácido tiobarbitúrico, destacando-se o malondialdeído, produzindo uma base de Schiff de coloração rosa. Os homogenatos foram precipitados com ácido tricloroacético (TCA) a 12% e agitados vigorosamente. Em seguida incubados em tampão Tris-HCl 60 mM 7,4 (0,1 mM DPTA) e ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,73%, durante 60 minutos a 100°C. Após, o material foi resfriado durante 30 minutos a 5°C e centrifugados (5min a 10000g), e a absorbância do cromóforo medido em 535nm, sendo os valores expressos em TBARS nmol g^{-1} .